

## Několik poznámek k laboratornímu vyšetřování antifosfolipidových protilátek

Maličková K.<sup>1,2</sup>, Šandová P.<sup>1</sup>, Janatková I.<sup>1,2</sup>

Všeobecná fakultní nemocnice a 1.lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze

<sup>1</sup>Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky, Klinická imunologie a alergologie – laboratoř

<sup>2</sup>Ústav imunologie a mikrobiologie

### Souhrn

Před 23 lety bylo v Lancetu poprvé popsáno vyšetření protilátek proti kardiolipinu u skupiny nemocných s rizikem opakovaných tepenných a/nebo žilních trombóz a opakovaných spontánních potratů. Tento soubor klinických a laboratorních příznaků byl zpočátku nazýván antikardiolipinovým syndromem, avšak po průkazu zkřížené reaktivity kardiolipinu s jinými fosfolipidy se ujal název antifosfolipidový syndrom (APS). Problematika APS je dosud předmětem řady diskusí. Ani po dvou desetiletích výzkumu nebylo dosaženo shody ohledně standardizace a interpretace výsledků vyšetření antifosfolipidových protilátek (APLA). Na téma standardizace vyšetření APLA se konalo mnoho mezinárodních workshopů, více nežli u kterýchkoli jiných autoprottilátek. Dosud však panují značné mezilaboratorní rozdíly v detekci APLA. Z tohoto důvodu je třeba do rutinních analýz APLA integrovat komplexní postupy kontroly kvality. Pro laboratoř usilující o poskytování kvalitních služeb je nezbytná důkladná externí kontrola kvality vyšetření (external quality assessment, EQA).

**Klíčová slova:** antifosfolipidový syndrom – antifosfolipidové protilátky – standardizace – externí kontrola kvality.

### Summary

#### Maličková K., Šandová P., Janatková I.: Comments on Antiphospholipid Antibody Tests

The Lancet was the first to report the use of anticardiolipin antibody test in a group of patients at risk of recurrent arterial and/or venous thrombosis and recurrent pregnancy losses, 23 years ago. The condition characterized by specific clinical and laboratory signs and initially called the anticardiolipin syndrome came to be known as the antiphospholipid syndrome (APS) when cross-reactivity of cardiolipin with other phospholipids was revealed. The study of APS still arouses controversy. Even after two decades of research, there is disagreement on the standardisation and interpretation of antiphospholipid antibody (APLA) test results. More international workshops have been organized on APLA tests than on any other autoantibody test. However, there is still wide interlaboratory variation in APLA detection. Therefore, comprehensive quality control procedures have to be integrated into the routine workload of laboratories performing APLA analysis. Participation in an external quality assessment (EQA) scheme is essential for any laboratory seeking to maintain and provide quality service.

**Key words:** antiphospholipid syndrome – antiphospholipid antibodies – standardisation – external quality assessment

V roce 1952 vyšel v časopise Journal of American Medical Association článek J. Moorea a C. Mohra, pojednávající o screeningu syfilis u vojáků armády USA pomocí nespecifického sérologického testu VDRL s netreponemovými antigeny (VDRL = Venereal Disease Research Laboratory) [1]. Zajímavým zjištěním byla skutečnost, že téměř polovina vyšetřených osob s pozitivním

výsledkem testu neměla syfilis, ale pozitivita testu byla zapříčiněna výskytem jiných (s lues nesouvisejících) protilátek. Jako jeden z cílových antigenů těchto „jiných“ protilátek byl definován kardiolipin (difosfatidylglycerol). [1, 2] Trvalo další tři desetiletí, než E.N. Harris v roce 1983 v Lancetu popsal význam a laboratorní způsob detekce protilátek proti kardiolipinu (anti-cardiolipin

**Tab. 1.** Diagnostická kritéria antifosfolipidového syndromu (Sapporo 1999, revidováno v Sydney 2004)**Table 1.** Diagnostic criteria for the antiphospholipid syndrome (Sapporo 1999, revision Sydney, 2004)

<b>KLINICKÁ KRITÉRIA</b>
<b>1. Cévní trombóza</b>
Jedna a více epizod tepenné nebo žilní trombózy s postižením kterékoliv tkáně či orgánu. Trombóza musí být potvrzena zobrazovací metodou, dopplerovskými nebo histopatologickými, s výjimkou povrchové žilní trombózy.
<b>2. Patologické těhotenství</b>
(a) Jedno a více úmrtí morfologicky normálního plodu po 10. týdnu gravidity včetně, <i>nebo</i> (b) jeden nebo více předčasných porodů morfologicky normálních novorozenců před 34. týdnem těhotenství z důvodu (aa) eklampsie nebo závažné preeklampsie, <i>nebo</i> (bb) potvrzené placentární insuficience, <i>nebo</i> (c) tři a více neočekávaných spontánních potratů před 10. týdnem těhotenství, pokud byly vyloučeny anatomické a hormonální abnormality u matky a genetické příčiny.
<b>LABORATORNÍ KRITÉRIA</b>
<b>Antikardiolipinové protilátky</b>
v izotypu IgG a/nebo IgM v séru ve středně zvýšeném nebo vysokém titru (tj >40 GPL nebo MPL, případně > 99 percentil, nebo >průměr + 3SD hodnot 40 zdravých kontrol), prokázané nejméně dvakrát s minimálně 12týdenním odstupem, detekce provedená pomocí standardizované ELISA soupravy.
<b>Lupusové antikoagulans</b>
Pozitivita v plazmě prokázána nejméně dvakrát s minimálně 12týdenním odstupem, detekce podle pravidel International Society on Thrombosis and Hemostasis – Scientific Subcommittee on Lupus Anticoagulants/Phospholipid-Dependent Antibodies (ISTH-SSC)
<b>Protilátky proti beta2-glykoproteinu-1</b>
v izotypu IgG a/nebo IgM v séru, prokázané nejméně dvakrát s minimálně 12týdenním odstupem, detekce provedená pomocí standardizované ELISA soupravy.

Diagnóza je potvrzena při pozitivitě alespoň jednoho klinického a jednoho laboratorního kritéria.

antibodies, ACLA) radioimunoanalytickou metodou [3]. Tyto protilátky byly detekovány u více než 60 % nemocných se systémovým erytematodem, kteří v mnoha případech trpěli též tepennými a žilními trombózami. Následně se objevily soupravy k detekci ACLA enzymovou imunoanalýzou (EIA) [4, 5] a tato laboratorní metoda začala pronikat do rutinní laboratorní diagnostiky.

V roce 1999 byla zformulována diagnostická kritéria tzv. antifosfolipidového syndromu (antiphospholipid syndrome, APS) [6, 7] revidovaná v roce 2004 na 11. mezinárodním kongresu o antifosfolipidových protilátkách. [8, 9, 10].

Platná kritéria APS uvádí tabulka 1.

### Standardizace vyšetření protilátek proti fosfolipidům – vývoj a současný stav

V roce 1986 se konal první mezinárodní workshop o protilátkách proti kardiolipinu, který poprvé nastolil otázku standardizace detekce ACLA [11]. Na tomto workshopu byl doporučen způsob



kvantifikace ACLA v jednotkách GPL (pro ACLA IgG) a MPL (pro ACLA IgM): jednotka byla definována jako 1 µg/ml afinitně purifikované proti-

látky. Workshop se zasloužil též o zavedení takzvaných Harrisových neboli Luisvillských standardů, připravených smícháním normálního séra se séry dvou pacientů s pozitivitou hematologických koagulačních testů na lupusové antikoagulans a s anamnézou trombotických příhod. Tyto standardy jsou dosud komerčně dostupné a běžně používané jako kalibrátory v diagnostických soupravách.

Koncem 80. let 20. století bylo jasné, že z řady diagnostických kitů k detekci ACLA jsou funkční pouze ty soupravy, které používají diluent s obsahem bovinního séra. Dnes je zřejmé, že bovinní sérum bylo zdrojem beta-2-glykoproteinu-1 (b2GP1), jehož patofyziologický význam v roce 1990 ozřejmily nezávisle na sobě 3 pracovní skupiny (Koike et al., Galli et al a Krilis et al.) [12, 13, 14]. ACLA asociované s klinickým průkazem trombóz potřebují k vazbě na fosfolipidy právě b2GP1 jako tzv. plazmatický kofaktor. Molekula b2GP1 po vazbě na fosfolipid (např. kardiolipin) projde konformačními změnami, vedoucími k odhalení kryptického antigenního neoepitopu. Protilátky proti tomuto epitopu jsou potom „skutečné“ patologické protilátky na rozdíl od těch, které provázejí například některá akutní infekční onemocnění a které reagují se samotným oxidací změněným fosfolipidem (tyto nejsou dependentní na kofaktoru, nezpůsobují žádné klinické projevy a zpravidla po vyléčení infekce vymizí). V současné době je proto součástí většiny ELISA souprav purifikovaný lidský b2GP1 (bovinní sérum je méně vhodné, protože je zdrojem dalších proteinů interferujících s imunoanalýzou).

Kardiolipin byl prvním fosfolipidem, u kterého byla prokázána asociace s imunopatologickými stavy. Kardiolipin se však nenachází v membráně trombocytů, ani není součástí koagulační kaskády. K fosfolipidům trombocytární membrány patří především fosfatidylcholin (50–60% podíl na celkových fosfolipidech trombocytární membrány), fosfatidylethanolamin (20–30%), fosfatidylserin (10–15%) a fosfatidylinositol (cca 5%). Od konce 90. let 20. století se proto u trombofilních stavů s imunopatologickou příčinou rozšířila diagnostika o detekci protilátek proti těmto a dalším fosfolipidům. V současné době je vhodné používat termín „antifosfolipidové protilátky“ (anti-phospholipid antibodies, APLA) a pojem ACLA vyčlenit pouze pro protilátky proti samotnému kardiolipinu. Pozice ACLA jako „zlatého standardu“ pro detekci APLA je pomalu překonávána, ISTH-SSC (International Society on Thrombosis and Hemostasis – Scientific Subcommittee on Lupus Anticoagulants/Phospholipid-Dependent Antibodies) dokonce v roce 2002 doporučila vyřadit stanovení ACLA z diagnostických kritérií APS [15]. Dosud se tak nestalo, pozitivita ACLA je stále prvním laborator-

ním kritériem APS (viz tabulka 1). Vyšetřením ACLA však nedostaneme odpověď na otázku, zda se jedná o kofaktor-dependentní (a tudíž patologické) protilátky či nikoliv. Mnoho studií navíc potvrdilo, že protilátky proti jiným fosfolipidům lépe korelují s klinickými projevy trombóz. Snad nejmarkantnější je pozorování Gleichera et al. V případě recidivujících potratů u nemocných s APS nebylo testováním protilátek proti kardiolipinu zachyceno dokonce 91 % nemocných ve srovnání s testy protilátek proti jednotlivým fosfolipidům [16]. Výše uvedené skutečnosti jsou odpovědí na někdy pokládanou otázku „proč vynakládat finance a čas na vyšetření protilátek proti dalším fosfolipidům a jejich kofaktorům, jsou-li protilátky proti kardiolipinu jednoznačně negativní“.

K detekci APLA lze zakoupit desítky druhů komerčně vyráběných souprav, mnoho laboratorů dosud používá též „in-house“ metody. Mnoho souprav je kalibrováno pomocí výše zmíněných Harrisových standardů. Ty však mají jeden zásadní problém: jsou vyrobeny ze sér pacientů, proto prakticky není možné dodržet u jednotlivých šarží identickou afinitu, aviditu a specificitu. Potvrdila to např. studie Rebera et al., která srovnávala devět komerčních kitů k detekci APLA kalibrováných na Harrisovy standardy a zjistila v průběhu času signifikantní rozdíly v reaktivitě samotných standard a potažmo celých souprav [17].

Tento problém nastolil potřebu jiného způsobu standardizace testů, a to pomocí monoklonálních protilátek, které již existují jak pro izotyp IgM (EY2C9), tak i IgG (HCAL). IgM monoklonální protilátka je produkována buněčnou kulturou imortalizovanou virem Epsteina-Barrové. Chimérická IgG monoklonální protilátka je složitější: variabilní část myší IgG anti-b2GP1 monoklonální protilátka je hybridizována s konstantní částí lidského IgG. Avšak i použití monoklonálních protilátek jako standard má svá slabá místa. Tyto monoklonální protilátky jsou cíleny proti jednomu určitému antigenu na první doméně molekuly b2GP1. I když se zdá, že právě tvorba protilátek proti antigenům z této domény má vztah ke klinickým projevům trombóz, výzkum protilátek proti dalším doménám dosud nebyl ukončen.

Evropské fórum antifosfolipidových protilátek vydalo v roce 2004 doporučení pro detekci antifosfolipidových protilátek (bez ohledu na způsob kalibrace detekční soupravy) [18]. Obsahuje tato čtyři ustanovení:

- 1) vyšetřovat séra v dubletech,
- 2) vytvořit si vlastní cut-off laboratoře vyšetřením alespoň 50 sér zdravých jedinců,
- 3) k výpočtu cut-off použít 95, 98 nebo 99% interval spolehlivosti a
- 4) používat dvě externí kontroly: jednu nižší nežli cut-off a druhou středně pozitivní.

## Naše zkušenosti ze systému externí kontroly kvality vyšetření antifosfolipidových protilátek UK NEQAS

Evropská konfederace laboratorní medicíny (European Confederation of Laboratory Medicine, ECLM) představila v roce 1995 obecná pravidla ISO/IEC Guide 25 pro oblast laboratorní medicíny [19]. Jejich základem jsou systémy zabezpečení a kontroly správnosti výsledků. *Quality Assurance*, tj. zabezpečení kvality výsledků, je v laboratorní medicíně důležité s ohledem na kvalitní péči o pacienta a správnost vyvozovaných závěrů, a také s ohledem na výměnu validovaných dat mezi laboratořemi. *Quality Assessment* neboli hodnocení kvality výsledků se děje pomocí vnějšího hodnocení *External Quality Assessment*, EQAS nebo také EQA, kam patří také mezilaboratorní porovnávací zkoušky. Většina programů EQAS je v Evropě vedena uznávanými profesními organizacemi. Jejich cílem je vzdělávání, zvýšení kvalifikace a zkvalitnění laboratorních služeb. Velmi komplexní a dobrý program pro zdravotnické laboratoře má Velká Británie – UK NEQAS (United Kingdom External Quality Assessment Service). Účastníkům testů je zajištěna anonymita výsledků, pro hodnotitele výsledků platí princip nezávislosti, nepodjatosti a profesní kompetentnosti.

Naše pracoviště se třetím rokem účastní kontrolních cyklů hodnocení antifosfolipidových protilátek UK NEQAS, a to jako jediné pracoviště v ČR. V tomto cyklu je každoročně obesíláno vzorky přes 500 laboratořím, z toho nejvíce britských (382). Z nových členských zemí EU se kontrolních cyklů kromě našeho pracoviště účastní 1 estonská, 6 maďarských a 1 maltská laboratoř, z mimoevropských zemí má největší zastoupení Izrael (11 laboratořím) a USA (7 laboratořím).

Kontrolní vzorky jsou připraveny jako pool sér a rozesílají se jednou za 8 týdnů, tj. šestkrát ročně. Všechny vzorky jsou negativně testovány na přítomnost HbsAg a protilátek proti HIV1, HIV2 a HCV. Ke stabilizaci vzorků je jako antimikrobiální činidlo použit 0,2% Proclin 150<sup>TM</sup>. Ve vzorcích je stanovována koncentrace protilátek proti kardiolipinu, beta-2-glykoproteinu 1 a fosfatidylserinu v izotypech IgG a IgM. Kontrolní vzorky mají být zařazeny v rutinním provozu klinické laboratoře mezi běžné denní vzorky nemocných, aby mohly odhalit případné problémy celého analytického procesu.

Kromě naměřených koncentrací APLA je od účastníků cyklu požadována též klasifikace

**Tab. 2.** Interpretace hodnot APLA IgG/IgM v cyklech UK NEQAS (United Kingdom External Quality Assessment Service) pro antifosfolipidové protilátky.

Zdroj: <http://www.ukneqas.org.uk/Directory/IMM/enaphos.htm>

**Table 2.** Interpretation of APLA IgG/IgM within United Kingdom External Quality Assessment Service for antiphospholipid antibodies.

Source: <http://www.ukneqas.org.uk/Directory/IMM/enaphos.htm>

< 20 GPLU-MPLU/ml	Negativní
20–40 GPLU-MPLU/ml	Slabě pozitivní
41–60 GPLU-MPLU/ml	Pozitivní
60 > GPLU-MPLU/ml	Silně pozitivní

GPLU – IgG Phospholipid Units – µg/ml afinitně purifikované protilátky v izotypu IgG

MPLU – IgM Phospholipid Units – µg/ml afinitně purifikované protilátky v izotypu IgM

GPLU – IgG Phospholipid Units – µg/ml affinity purified IgG isotype antibody

MPLU – IgM Phospholipid Units – µg/ml affinity purified IgM isotype antibody

**Tab. 3.** Rozložení úspěšnosti z hlediska výrobců diagnostických souprav (n ≥ 5)

(cyklus 056, prosinec 2005, ACLA IgG)

**Table 3.** Distribution of adequate results by diagnostic kit manufacturer (n ≥ 5)

(series 056, December 2005, ACLA IgG)

	n	SD	CV (%)
Všechny metody	242	20,6	32,1
Binding Site	9	9,6	21,2
Cheshire Diagnostics	5	13,7	35,9
CLS Autozyme	28	5,7	14,2
Diamedix	10	18,9	19,1
Euroimmun	7	18,5	43,4
Grifols	15	9,3	13,6
ImmunoConcepts	5	31,4	46
in-house ELISA kity	17	13,3	27,1
Inova	16	13,5	25,8
Orgentec	80	12,3	15,8
Pharmacia Upjohn	29	17,4	26,1

SD – směrodatná odchylka, tj. rozptyl hodnot kolem střední hodnoty, vypovídající o tom, jak moc se od sebe navzájem liší naměřené hodnoty v rámci každé jednotlivé diagnostické metody. Je-li malá, jsou si naměřené hodnoty v souboru většinou navzájem podobné, naopak velká směrodatná odchylka signalizuje velké vzájemné odlišnosti.

CV – variační koeficient, tj. míra relativního rozptýlení dat, počítá se jako podíl směrodatné odchylky k průměru v procentech

SD – standard deviation, i.e dispersion of values around the mean value indicative of how far apart the measured data are from each other within each diagnostic method. If the values are close to each other, they are all similar, and vice versa, a high standard deviation is indicative of great differences between values.

CV – coefficient of variation, a measure of dispersion of the data around the mean, is calculated as the ratio of the standard deviation to the mean and expressed as a percentage.

hodnot do skupin negativní – slabě pozitivní – pozitivní – silně pozitivní. Interpretace výsledků APLA v cyklech UK NEQAS uvádí tabulka 2.

Laboratoře v protokolech uvádějí jak naměřené hodnoty vyjádřené v jednotkách doporučených výrobcem použité diagnostické soupravy, tak i adjustovanou hodnotu na referenční vzorek (RP 97/656) neboli Harrisův standard.

Správnost výsledků každé individuální laboratoře je hodnocena několika způsoby. Největší vypovídací hodnotu pro praxi má index OMIS (Overall Misclassification Index Score). Při tolerančním rozpětí  $\pm 25\%$  udává index OMIS počet nesprávných stanovení laboratoře v určitém časovém úseku; ideální hodnota OMIS=0.

Zajímavou informaci přináší rozložení úspěšnosti laboratoří z hlediska výrobců diagnostických souprav. Tabulka 3 uvádí jedno z hodnocení pro jednu autoprotilátku a jeden izotyp z jednoho náhodně vybraného cyklu.

## Závěr

V minulosti provedenou retrospektivní analýzou několika tisíc stanovení APLA v rutinním provozu Laboratoře klinické imunologie a alergologie ÚKBLD VFN jsme se ujistili v tom, že kombinace pozitivita APLA + vyšších titrů auto-protilátek + protilátek proti kofaktoru se vyskytují výhradně u chorobných stavů a téměř nejsou nacházeny u zdravých jedinců [20]. Mezi-laboratorní (a tím i geografické) rozdíly hodnot mohou být způsobeny používáním různých metodických přístupů v analytice, různým přístrojovým vybavením a způsobem tvorby referenčních rozsahů. Domníváme se, že by bylo třeba dosáhnout standardizace těchto faktorů, protože podstatným způsobem ovlivňují hodnoty měřených parametrů.

Na kvalitu laboratorních vyšetření je třeba klást vysoké požadavky. To může zajistit pouze systematická kontrola kvality. Provádění pravidelných kontrolních postupů zajišťuje nejen požadovanou spolehlivost vyšetření, ale i potřebnou jistotu pro zaměstnance laboratoře, vyšetřované pacienty a ordinující lékaře. Z vlastních zkušeností doporučujeme pravidelné externí hodnocení kvality systémem objektivního hodnocení laboratorních výsledků externí nezávislou organizací k tomu pověřenou. Cílem je dosáhnout srovnatelnosti výsledků vyšetření APLA mezi jednotlivými pracovišti v národním i mezinárodním měřítku.

## Poděkování

*Práce byla podpořena Výzkumným záměrem MŠMT ČR MSM0021620807.*

## Literatura

1. **Moore J. E., Mohr C. F.** Biologically false positive serologic tests for syphilis; type, incidence, and cause. *J Am Med Assoc.* 1952 Oct 4, 150(5), 467–73.
2. **Mohr C. F., Moore J. E., Nelson R. A., Hill J. H.** Studies on the relationship of treponemal antibody to probable biologic false positive serologic tests for syphilis. *Am J Syph Gonorrhea Vener Dis.* 1950 Sep 5, 34(5), 405–409.
3. **Harris E. N., Gharavi A. E., Boey M. L., Patel B. M., et al.** Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet*, 1983 Nov 26, 2(8361), 1211–1214.
4. **Mackworth-Young C. G.** Antiphospholipid antibodies. *Curr Opin Immunol.* 1989 Apr, 1(4), 747–752.
5. **Sammaritano L. R., Gharavi A. E., Lockshin M. D.** Antiphospholipid antibody syndrome: immunologic and clinical aspects. *Semin Arthritis Rheum.* 1990 Oct, 20(2), 81–96.
6. **Weber M., Hayem G., Meyer O.** The Sapporo criteria for antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum.* 2001 Aug, 44(8), 1965–1966.
7. **Wilson W. A., Gharavi A. E., Piette J. C.** International classification criteria for antiphospholipid syndrome: synopsis of a post-conference workshop held at the Ninth International (Tours) aPL Symposium. *Lupus.* 2001, 10(7), 457–460.
8. **Cervera R., Piette J. C., Font J., Khamashta M. A. et al.** Euro-Phospholipid Project Group. Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Arthritis Rheum.* 2002 Apr, 46(4), 1019–1027.
9. **Lackner K. J., Peetz D., von Landenberg P.** Revision of the Sapporo criteria for the antiphospholipid syndrome – Coming to grips with evidence and Thomas Bayes? *Thromb Haemost.* 2006 Jun, 95(6), 917–919.
10. **Miyakis S., Lockshin M. D., Atsumi T., Branch D. W. et al.** International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost.* 2006 Feb, 4(2), 295–306.
11. **Harris E. N., Gharavi A. E., Patel S. P., Hughes G. R.** Evaluation of the anti-cardiolipin antibody test: report of an international workshop held 4 April 1986. *Clin Exp Immunol.* 1987 Apr, 68(1), 215–222.
12. **Galli M.** Anticardiolipin antibodies directed not to cardiolipin but to plasma protein cofactor. *Lancet* 1990, 385, 1544–1551.
13. **Matsuura E., Igarashi Y., Fujimoto M., Ichikawa K., Koike T.** Anticardiolipin cofactor(s) and differential diagnosis of autoimmune disease. *Lancet* 1990, 336, 177–178.
14. **McNeil H. P., Simpson R. J., Chesterman C. N., Kriis S. A.** Antiphospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation:  $\beta 2$ -glycoprotein 1 (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990, 87, 4120–4124.
15. **Lupus Anticoagulants/Phospholipid-Dependent-Antibodies SSC, ISTH, Boston, 2002.**
16. **Gleicher N., Coulam C.** Antiphospholipid antibodies and thrombosis. *Lancet* 1999, Vol. 354, No 9172, 71–73.
17. **Reber G., Tincani A., Sanmarco M., de Moerloose P., Boffa M. C.** European Forum on Antiphospholipid Antibodies Standardization Group. Variability of anti-beta2

- glycoprotein I antibodies measurement by commercial assays. *Thromb Haemost.* 2005 Sep, 94(3), 665–72.
18. **Tincani A., Allegri F., Balestrieri G., Reber G., et al.** Minimal requirements for antiphospholipid antibodies ELISAs proposed by the European Forum on antiphospholipid antibodies. *Thromb Res.* 2004, 114(5–6), 553–558.
19. **Kallner A.** Accreditation of medical laboratories. Guidance on the interpretation of ISO/IEC Guide 25, ECLM/EAL, Draft 10, 1995–11–10.
20. **Vankova Z.** The clinical significance of elevated levels of antiphospholipid antibodies: a retrospective study. *Immunobiology* 2005, 209 (Suppl 1), 57–58.

Do redakce došlo 26. 6. 2006

MUDr. Karin Malíčková

Ústav imunologie a mikrobiologie VFN a 1. LF UK

Karlovo nám. 32

121 11 Praha 2

e-mail: kmali@lf1.cuni.cz

## RECENZE

### **BERAN J., HAVLÍK J., VONKA V.: OČKOVÁNÍ – MINULOST, PŘÍTOMNOST, BUDOUCNOST. (GALÉN 2005, 1. VYDÁNÍ, 348 STRAN, ISBN80-7262-361-3)**

Když se hodnotí přínos biomedicínského výzkumu pro zdraví lidské populace, na prvním místě se uvádí vakcinace. Zdůrazňuje se především specifická prevence epidemiologicky závažných infekčních chorob a dokazuje se, jak výrazně jejich výskyt ve vakcinovaných skupinách poklesl. Oceňovány jsou i možnosti vakcinace terapeutické, např. u chronických infekčních procesů. S nadějí jsou sledovány snahy o využití vakcín k prevenci a především léčbě maligních chorob. Očekává se cítit i v oblastech autoimunitních a alergických chorob, ale také např. při regulaci plodnosti.

Vznikla svébytná disciplína vakcinologie, která se opírá o moderní poznatky a technologické možnosti mikrobiologie, imunologie, molekulární biologie a genetiky při vývoji a přípravě nových očkovacích látek. V ní, snad výrazněji než v jiných oborech, je translace poznatků laboratorního a experimentálního výzkumu do medicínské praxe imperativní. Je to disciplína, bez níž se už neobejdou pediatři, internisté, infekcionista, onkologové. Dotýká se i široké laické veřejnosti: neporozumění principu vakcinace, odmítání ochranného očkování, neprovázelo jen její začátky v Jennerově době, setkáváme se s ním, často v rafinovanější formě, i dnes.

Kniha je rozčleněna do tří oddílů. První je nazván „Minulost - historie některých infekčních nemocí a vývoj vakcín proti nim“. Prof. Havlík vrací čtenáře do doby „lovců mikrobů“, do „zlatého věku mikrobiologie“, aby ukázal, jaký je dnešní stav výskytu pravých neštovic, tuberkulózy, vztekliny, záškrtu, černého kašle, břišního tyfu, dětské obrny, spalniček, zarděnek, virových hepatitid, pneumokokových, hemofilových, meningokokových infekcí, klíšťové meningoencefalitidy, chřipky, planých neštovic, ale také antraxu, cholery, moru, žluté zimnice a japonské encefalitidy. Instruktivní obrázky typické klinické symptomatologie chorob, impresivní jednoduché grafy dokumentující, jak se nebezpečné infekční nemoci v důsledku vakcinace z lidské populace vytrácejí, globální pohled na vztahy mikrob-člověk, a v neposlední řadě jednotné členění všech kapitol dodávají tomuto oddílu mimořádnou přitažlivost pro čtenáře.

Druhý oddíl má v nadpisu „Současnost – Vakcíny používané v běžné praxi“. Prof. Beran nejdříve prezentuje oblasti, priority a cíle v očkování prosazované Světovou zdravotnickou organizací. V další kapitole je věnována velká pozornost „mýlným názorům na očkování“, které jsou zřetelné a jednoznačně odmítnuty. Kapitola „Základy imunologie ve vakcino-

logii“ by měla čtenáři zrekapitulovat poznatky o struktuře a funkci imunitního systému, které jsou pro vakcinaci bezpodmínečně nutné a které jsou uváděny v učebnicích imunologie detailněji. Kapitola „Očkování a jeho vliv na imunitní systém“ se zabývá především dynamikou tvorby protilátek. Doporučoval bych, aby v příštím vydání byla pozornost obrácena také k zásadnímu fenomenu vakcinace, tj. navození, udržení a podstatě imunologické paměti. Následují kapitoly o složení očkovacích látek, o imunologických adjuvancích, dále rozebírající typy a druhy očkovacích látek, zásady správné imunizace a správné očkovací techniky, nežádoucí reakce po očkování. Zejména lékaři v praxi ocení kapitolu o očkovacím kalendáři platném v České republice, o očkování v ordinaci praktického lékaře pro dospělé, o očkování při cestách do zahraničí a o očkování atopiků a osob s podlomenou imunitou. Na komplexnost problematiky zavádění vakcín do praxe ukazují kapitoly o klinickém hodnocení a jeho výsledcích. Kapitola „současné trendy ve vakcinologii“ je částečně úvodem do posledního oddílu knihy.

Prof. Vonka s dr. Němečkovou jsou autory oddílu, který je nazván „Budoucnost – vakcíny nové generace“. Tak jak se poučavě díval prof. Havlík do minulosti, tak se zanícením ukazují prof. Vonka horizonty, které se pro obor vakcinologie rýsují. Čtenář je postupně vtahován do světa buněk, molekul, genetického inženýrství, přesvědčuje se, že selektivní podpora imunitní reaktivity je prospěšná nejen u infekčních, ale i neinfekčních chorob, že se nabízejí vakcíny nové generace, vč. tzv. DNA-vakcín, že byla poznána nová adjuvancia, která jsou schopna zvláštními způsoby modifikovat imunitní odpověď, že lze metodikami genetického inženýrství připravit imunogenní rekombinantní viry a bakterie, ale také modifikovat rostliny, které jsou součástí naší potravy tak, aby obsahovaly antigeny schopné perorální imunizace. V tomto oddílu jsou kapitoly DNA-vakcíny, syntetické vakcíny, vakcíny z nádorových buněk, vakcíny z dendritických buněk, rostlinné vakcíny. Kritické hodnocení publikovaných prací a vlastní zkušenosti s vakcínami nové generace je pro čtenáře působivé.

Přehledná tabulka vakcín, které jsou používány v humánní i veterinární medicíně, krátký slovníček neobvyklých termínů, přehled užívaných zkratk a seznam zásadní použité literatury využití knihy zvyšují.

Doporučuji tuto knihu nejen imunologům, mikrobiologům, epidemiologům a lékařům, kteří očkování zajišťují. Bude pro ně nepostradatelným skvostem. Jsem však přesvědčen, že uchvátí i jiné specialisty v medicíně a biologii.

Prof. Jindřich Lokaj