

Důsledkem je snížená koagulační aktivita FVIII a porušená adhezivní funkce destiček. Klinické projevy závisí na tíži strukturálního nebo kvantitativního defektu vWF. Typické je krvácení ze sliznic, zejména z nosu a dásní, kožní krvácení či protražované krvácení po poranění. vWch se dle klasifikace z roku 2006 dělí na 3 typy. Typ 1 a 3 je kvantitativní deficit vWF, u typu 1 se jedná o parciální, u typu 3 o úplný nedostatek vWF, přičemž struktura a funkce vWF jsou u typu 1 normální. Typ 2 je definován jako kvalitativní čili strukturální defekt vWF provázený poruchou funkce zejména vysokomolekulárních multimerů. U typu 2 rozlišujeme na základě analýzy struktury multimerů ještě několik subtypů. Zcela jednoznačnou diagnostiku vWch umožňuje molekulárně genetické vyšetření. Panel diagnostických testů vWch na našem pracovišti zahrnuje testy screeningové (krevní obraz, krvácivost metodou Simplate, aPTT), základní (FVIII:C, vWF:Ag, funkční testy vWF:RCo, vWF:CB) a specifické (provádíme RIPA - ristocetinem indukovaná agregace destiček). Na základě výpočtu diskriminačního poměru, který hodnotí funkci vůči hladině vWF, jsme schopni rozlišit kvantitativní a kvalitativní poruchu vWF (typ 1 a 3 od typu 2). Vysoce specifické diagnostické testy neprovádíme rutinně, vzorky zasíláme na specializovaná pracoviště. V lednu 2015 jsme do vyšetřovacího panelu přidali další funkční test - test vazebné kapacity kolagenu (vWF:CB, výrobce Corgenix). vWF:CB se provádí ELISA kitem REAADS Collagen Binding Assay Test Kit (96 well kit), kdy kolagen pokrývá povrch jamky mikrotitrační destičky. Referenční plazma a kontrolní plazmy jsou součástí kitu. Výsledné hodnoty vWF:CB v % se odečítají z nastavené kalibrační

křivky při vlnové délce 450 nm proti referenčnímu filtru 650 nm na fotometru Reader 530 (Athos Labtec Instrument GmbH Rakousko). Výrobce kitu doporučuje zároveň i stanovení antigenu vWF (vWF:Ag), které jsme respektovali. Stanovení bylo prováděno ELISA kitem - REAADS VON WILLEBRAND FACTOR ANTIGEN KIT ELISA (96 wells) - v jamkách mikrotitrační destičky je navázána specifická protilátka anti-human vWF. Referenční plazma ke kalibraci je součástí kitu. Výsledné hodnoty vWF:Ag v % byly odečteny z nastavené kalibrační křivky při vlnové délce 450 nm proti referenčnímu filtru 650 nm rovněž na fotometru Reader 530. Správná kalibrace vWF:CB, vWF:Ag byla ověřena kontrolním materiálem Control N a Control P (firma Siemens), naměřené hodnoty vWF:Ag a vWF:CB byly v povolených referenčních mezích. Od ledna 2015 do března 2016 jsme vyšetřili vzorky plazmy kontrolní skupiny (20 zdravých dobrovolníků - muži, ženy) a 112 pacientů s již známou diagnózou vWch, s poruchami koagulace a krvácivými stavy. K vyhodnocení jsme použili výpočet diskriminačního poměru R (tj. poměr vWF:CB/vWF:Ag). U zdravých lidí je  $R=1$ , u pacientů s vWch typu 1 je R v rozmezí 0,5-1,0, u pacientů s typem 2 vWch je  $R < 0,5$ . V případě výsledků kontrolní skupiny se R pohybovalo v rozmezí 1,0-1,3. U pacientů s diagnostikovanou vWch byl poměr R od 0,1-1,3; u pacientů s krvácivými stavy, resp. poruchou koagulace od 0,4-1,6. U pacientů s  $R < 0,5$  byla provedena další vyšetření na specializovaném pracovišti k upřesnění diagnózy, např. přímé vyšetření struktury velkých multimerů. Metodika výše uvedených ELISA testů byla zvládnuta, od ledna 2016 jsou standardní součástí vyšetřovacího panelu vWch.

## PODPŮRNÁ PÉČE

### **P54/2937. PRIMÁRNÍ ANTIMYKOTICKÁ PROFYLAXE MICA FUNGINEM, V DÁVCE 50 MG NA DEN, U DOSPĚLÝCH PACIENTŮ BĚHEM INDUKČNÍ CHEMOTERAPIE AKUTNÍ LYMFOBLASTICKÉ LEUKÉMIE (ALL): HODNOCENÍ Z POHLEDU BĚŽNÉ KLINICKÉ PRAXE**

Kabut T., Folber F., Šálek C., Procházková J., Rolencová M., Kocmanová I., Kouba M., Weinbergerová B., Cetkovský P., Mayer J., Ráčil Z. (Interní hematologická a onkologická klinika Fakultní nemocnice, Brno; Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha; Oddělení klinické mikrobiologie FN, Brno)

Úvod: Invazivní mykotické infekce (IFI) během léčby akutních leukémií bývají spojeny s vysokou morbiditou a mortalitou. Zatímco u pacientů intenzivně léčených s akutní myeloidní leukémií je primární antimykotická profylaxe (PAP), především posakonazolem, zavedenou praxí, standardizované postupy PAP u pacientů s ALL chybí. Hlavní problém představuje zejména riziko interakcí azolových antimykotik, účinných proti vláknitým houbám, s cytostatiky používanými v rámci intenzivní léčby ALL. Volba vhodné PAP u pacientů s ALL je proto složitá, přičemž v mnoha případech pacienti pak zůstávají bez dostatečné ochrany proti vláknitým houbám. Cíl: Hodnocení efektivity a bezpečnosti PAP micafunginem (50 mg/den) během indukční léčby do-

spělých pacientů s ALL. Metodika: Retrospektivní analýza pacientů z 2 hematologických center v rámci České republiky, léčených s ALL (ev. s T-lymfoblastickým lymfomem nebo Burkittovým lymfomem/leukémií) dle intenzivních ALL (nebo ALL podobných) protokolů s PAP micafunginem. Micafungin v dávce 50 mg/den byl pacientům podáván od počátku indukční chemoterapie do restituce v absolutním počtu neutrofilů. K hodnocení IFI byla použita kritéria EORTC/MSG 2008, pro bezpečnost PAP kritéria CCTCAE v. 4. Výsledky: Mezi roky 2012 až 2015 celkem 49 pacientů dostávalo během indukční chemoterapie ALL PAP micafunginem v dávce 50 mg na den. Trvání této profylaxe bylo v průměru 22 dní (2-80 dní). U 39 pacientů byl v léčbě použit protokol ALL-CELL 2012 Junior, u zbylých 3 a 7 pacientů pak protokoly GMALL B-ALL/NHL 2002 a ALL-CELL 2012 Elderly nebo EWALL Elderly. Selhání antimykotické profylaxe bylo zaznamenáno u 2 ze 49 pacientů (4,1%), kteří během léčby rozvinuli IFI. U obou se jednalo o „prokázanou“ IFI, zatímco „pravděpodobná“ IFI se v sledovaném souboru nevyskytla. Oba pacienti s prokázanou IFI byli následně úspěšně léčeni kombinacemi antimykotik. V prvním případě se jednalo o invazivní plicní aspergilózu, která byla histologicky prokázána a konfirmována PCR identifikací (kultivace negativní). Tato infekce se ovšem vyskytla již velice časně po zahájení PAP (4. den). U druhého pacienta se IFI manifestovala jako diseminovaná infekce s postižením jater a sleziny plísní *Geotrichum capitatum*. Citlivost k echinocandinům zde byla stanovena jako MIC 32 µg/ml. Dalších 10 pacientů ze 49 (20,4%) rozvinulo plicní infiltráty na HRCT, z čehož 3 ze 49 (6,1%) infiltráty pro IFI specifické, dle kritérií EORTC/MSG 2008 (bez mikrobiologického záchytu, naplňující tak kritéria pro „možnou“ IFI), a 7 ze 49 (14,3%) infiltráty nespecifické. Empirická antimykotická terapie byla zahájena u 10 pacientů ze 49 (20,4%), přičemž u 8 případů z 10 byl zvolen micafungin 100 mg/den, u zbylých dvou pak vorikonazol nebo amfotericin B lipidový komplex. V celém souboru došlo během indukční chemoterapie k elevaci jaterních testů (JT) minimálně na grade 1-2. Nicméně 63% z těchto pacientů mělo již vstupně zhoršené jaterní parametry. Žádné z těchto zhoršení JT však nebylo uzavřeno jako postižení související s podáváním micafunginu a nevyžadovalo tak přerušování PAP. Závěr: Zhodnocení nasbíraných dat prokázalo efektivitu micafunginu v dávce 50mg/den jako PAP u této velmi rizikové populace pacientů stran invazivních mykotických infekcí, ale rovněž i možných lékových interakcí. Pouze u dvou pacientů (4,1%) byla zaznamenána průlomová IFI, navíc v jednom případě ve velmi časně po zahájení PAP. Zvýšení jaterních testů představovalo hlavní limitaci této profylaxe, ale souviselo pravděpodobněji

se samotnou terapií ALL a nevyžadovalo tak přerušování profylaxe micafunginem.

### **P55/2903. INFEKČNÍ KOMPLIKACE PŘI LÉČBĚ RITUXIMABEM A JEJICH PREVENCE**

**Polák P., Penka M., Smejkal P., Chlupová G., Kamelander J. (Oddělení klinické hematologie, Fakultní nemocnice, Brno)**

Autoři se věnují rizikům infekčních komplikací při léčbě monoklonální protilátkou proti povrchovému znaku CD20 lymfocytů. Ve vztahu k infekcím jsou diskutovány zásadní patofyziologické mechanismy jako je měsíce až roky trvající deplece B-lymfocytů, riziko deficitu protilátek různých tříd a pozdní neutropenie po aplikaci rituximabu. Souhrnně jsou prezentovány dosud popsané infekční komplikace u pacientů léčených rituximabem. Výstupem je shrnutí nejpodstatnějších kroků prevence infekčních komplikací komunitních i spojených s nemocniční péčí se zvláštním důrazem na vakcinaci proti chřipce a pneumokokům a tetanu. Pokud je to možné, pak je nezbytné vakcinaci dokončit alespoň 2 týdny před aplikací rituximabu. V případě závažných infekčních komplikací je indikována aplikace nitrožilních imunoglobulinů (IVIG).

### **P56/2873. USEFULNESS OF SERUM 1,3-B-D-GLUCAN FOR DIAGNOSIS OF INVASIVE FUNGAL DISEASE IN PATIENTS WITH HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES: A RETROSPECTIVE ANALYSIS**

**Weinbergerová B., Kocmanová I., Rolencová M., Mayer J., Ráčil Z. (Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN, Brno; Oddělení klinické mikrobiologie, FN, Brno)**

Background: Serologic detection of circulating 1,3-b-D-glucan (BG) fungal biomarker shows promise for improving the diagnosis of invasive fungal diseases (IFDs). Numerous studies have evaluated the diagnostic performance of BG and proved its suboptimal sensitivity when used alone for early diagnosis of IFDs. Moreover, the major limitation of this test mainly in hematological patients (pts.) is the high frequency of false positive results. Aims: We have evaluated the usefulness of the serum BG assay in real practice for the diagnosis of IFDs in pts. with hematological malignancies. Methods: We retrospectively analyzed serum BG samples collected from patients with hematological malignancies in high risk of IFDs treated at our department between 2010 and 2014. The Fungitell assay was used for detection of BG. We performed retrospectively

ve cross check of probable and proven IFDs recorded in the Fungal INfection Database - FIND. BG results were not used for the diagnosis of IFDs. Results: Fungitell assay was performed on 1912 serum samples from 630 patients with hematological malignancy (3.0 samples/pt.). Depending on the cut-off used ( $\geq 60$ ;  $\geq 80$ ;  $\geq 100$ ;  $\geq 150$  pg/ml) there were 231 positive BG samples in 78 pts.; 185 samples in 64 pts.; 155 samples in 52 pts. and 108 samples in 33 pts, respectively. Proven and probable cases of IFD occurred only in 49 (21.2%) out of 231 positive samples (in 19 out of 78 patients) with BG  $\geq 60$  pg/ml - 11 probable invasive aspergillosis (IA), 4 proven IA, 3 invasive candidiasis and 1 invasive fusariosis. Eight pts. (1.5%) from the group with negative BG samples ( $< 60$  pg/ml) developed any IFD (6 probable IA, 1 proven IA and 1 invasive trichosporonosis). Depending on the

criterion of positivity of BG used ( $\geq 60$ /  $\geq 80$ /  $\geq 100$ /  $\geq 150$  pg/ml) sensitivity was 67.1/63.6/63.1/53.9%, specificity was 90.1/92.9/93.6/95.4%, negative predictive value (NPV) was 98.6/98.6/98.6/98.6% and positive predictive value (PPV) was 21.2/21.3/26.5/25.9%, respectively. Conclusion/summary: Our study proved high specificity and NPV of serum BG allowing to exclude patients with IFD. On the other hand we confirmed limited sensitivity and mainly very low PPV of the test as its major limitations. We didn't observe any significant differences in sensitivity and PPV between groups with different cut-offs. Thus positive BG assay results in high risk hematological pts. should be carefully evaluated together with other clinical and microbiological findings. This work was supported by grant MUNI/A/1028/2015.

## TRANSFUZNÍ PROBLEMATIKA

### P57/3009. JE ÚROVEŇ BEZPEČNOSTI HEMOTERAPIE V ČR DOSTATEČNÁ?

**Bohoněk M., Tesařová E. (Oddělení hematologie a krevní transfuze, Ústřední vojenská nemocnice - Vojenská fakultní nemocnice, Praha; Transfuzní a tkáňové oddělení Fakultní nemocnice, Brno)**

Úvod: Podání krevní transfuze je z mnoha příčin nutně stále považovat za rizikový výkon. Velikost rizika lze minimalizovat, ale nelze jej nikdy zcela vyloučit. Z forenzního hlediska je mimořádně závažné riziko přenosu infekcí. Dále jsou to alergické a imunologické reakce a závažné smrtící reakce při podání nekompatibilního erytrocytárního přípravku. Jedním z nejdiskutovanějších problémů současného transfuzního lékařství je riziko přenosu infekce. Kontaminované krevní transfuze jsou celosvětově stále příčinou řady nových infekcí a nálezů příjemců. Postupů k omezení infekčních rizik transfuzí je několik. Jedná se v první řadě o důsledný výběr dárců s důrazem na bezpříspěvkové dárcovství, provádění screeningového, vyšetřování dárců, deleukotizace přípravků, používání patogen-redukčních technik a sledování a vyhodnocování nežádoucích vlivů transfuzí hemovigilancí. Testování dárců krve a jejich složek na krví přenosné infekce: Základem laboratorního screeningu dárců krve na krví přenosné infekce jsou sérologická vyšetření, která jsou ale zatížena rizikem diagnostického okna (HIV 2 - 3 týdny, HBV 4 - 6 týdnů, HCV 2 - 6 měsíců). Možností, jak toto riziko snížit, je rozšíření screeningu o molekulárně biologické metody, kterými se zjišťuje přímo přítom-

nost nukleové kyseliny daného viru. Citlivost těchto metod je vyšší a umožňují tak zkrácení diagnostického okna (u HIV o 7 - 9 dnů, HCV o 59 - 65 dnů a HBV o 25 - 30 dnů). Značná část zemí světa proto v posledních 15 letech k sérologickým testům zavedla i rutinní vyšetření NAT a v transfuzní službě jsou tato vyšetření již pokládána za „State of the Art“. Testování dárců krve a rizika přenosu infekce krevní transfuzí v ČR: V ČR je testování dárců krve na krví přenosné infekce založeno na povinném minimu, tj. na sérologickém vyšetření HBsAg, anti-HCV, anti-HIV 1/2 + Ag p24 a na syfilis. Rozšíření testování o další metody je již několik let na úrovni odborné společnosti a MZ pouze diskutováno, ačkoli promořenost české populace např. VHC činí cca 10 případů na 100 tisíc obyvatel a představuje tak epidemiologický i transfuziologický problém. Infekce HIV je na setrvalém vzestupu exponenciálního charakteru. Nárůst infekce HIV i HCV v obecné populaci ČR zvyšuje její prevalenci i mezi dárci krve. V ČR je ročně provedeno téměř 500 tisíc odběrů krve a jejich složek, za účelem výroby transfuzních přípravků pro klinické použití. Kalkulované riziko přenosu infekce krevní transfuzí je v ČR u virových hepatitid 1 : 300.000, u HIV 1 : 500.000 podaných transfuzí. Zatímco přenos HBV a HCV transfuzí v ČR je v jednotlivých případech téměř každoročně zaznamenán a v roce 2015 v ČR došlo dokonce k sériovému přenosu HCV, přenos HIV transfuzí v ČR dosud popsán nebyl. Nejohroženějšími skupinami pacientů jsou polytransfundovaní, zpravidla onkologičtí a onkohematologičtí pacienti, kterým případný přenos závažné infekce, významně komplikuje jejich zdravotní