

IN VITRO DIAGNOSTIKA

- NEJISTOTA A CHYBA MĚŘENÍ V KLINICKÉ LABORATORI
- POTENCIÁL VYUŽITÍ INTERLEUKINU 6 A VYSOCE SENSITIVNÍHO TROPONINU I V DIAGNOSTICE VÝDUTÍ BŘÍŠNÍ AORTY
- NOVÁ GENERACE SOUPRAVY PRO IZOLACI DNA Z KRVE: GENFIND V3

Diagnostic eXcellence

DxI 800

- **RYCHLOST**
400 jednokrokových metod za hodinu
- **PESTROST**
až 50 různých metod na palubě
- **VÝKON**
120 zkumavek do 18 minut
- **KAPACITA**
až 50 reagenčních packů (chlazených)
- **EFEKTIVITA WORKFLOW**
uvolňování stojánku pro další zpracování do 1 minuty
- **RYCHLÁ ÚDRŽBA**
max. 5 minut denně
- **VALIDNÍ VÝSLEDKY**
134 senzorů pro monitoraci systému



...NESTOJÍ OPODÁL...



www.beckmancoulter.cz



OBSAH

- 4** NEJISTOTA A CHYBA MĚŘENÍ V KLINICKÉ LABORATOŘI
- 10** POTENCIÁL VYUŽITÍ INTERLEUKINU 6 A VYSOCE SENSITIVNÍHO TROPONINU I V DIAGNOSTICE VÝDUTÍ BŘÍŠNÍ AORTY
- 13** IMUNOCHEMICKÉ ANALYZÁTORY BECKMAN COULTER
- 14** NOVÉ SOUPRAVY CLEARLLAB 10 COLOR (CE-IVD)
Komplexní řešení analýzy Lymfomů a Leukemií na průtokovém cytometru
- 15** SOUPRAVA CLEARLLAB LS LYMPHOID SCREEN
- 16** PRŮTOKOVÝ CYTOMETR CYTOFLEX V BOTANICE
Zkušenost uživatele
- 17** NOVÁ GENERACE SOUPRAVY PRO IZOLACI DNA Z KRVE: GENFIND V3
- 18** AKVIZICE SPOLEČNOSTI LABCYTE
firmou Beckman Coulter Life Sciences
- 19** POHLED NA HEMATOLOGICKÉ ANALYZÁTORY
Sysmex řady XN 10, XN 20 a Beckman Coulter DxH 800 v praxi
- 23** COLOURS OF SEPSIS
29. 1. – 1. února 2019, Ostrava
- 25** LABCONGRESS
- KONGRES LABORATÓRNEJ DIAGNOTIKY
26. – 27. novembra 2018, Žilina
- 26** TERAPEUTICKÉ MONITOROVANIE HLADÍN LIEČIV
- 29** UPGRADE INTEGROVANÉHO SYSTÉMU POWERLINK ANALYZÁTOREM DXC 700 AU
- 31** POWER EXPRESS VERZE 3.5
Systém Power Express je rozšiřitelný systém pro zpracování zkumavek se vzorky
- 32** ORGANIZAČNÍ STRUKTURA BC
- 34** JAK POMÁHÁME NEVIDOMÝM SE SVĚTLUŠKOU SVÍTIT NA CESTU
- 34** KDE SE MŮŽEME SETKAT

• REDAKCE

ČASOPIS VYDÁVÁ A DISTRIBUJE

Beckman Coulter Česká republika s.r.o.
Radiová 1, 102 27 Praha 10
www.beckman.cz

DO ČASOPISU PŘISPĚLI

RNDr. Bedřich Friedecký, Ph.D. – LF a FN Hradec Králové
RNDr. Josef Kratochvíla – SEKK Pardubice
Ing. Miroslav Janošík, Ph.D.
Ing. Roman Vlček
Mgr. Pavel Kružík
Ing. Eva Králová
Mgr. Jan Vrána, Ph.D. – Ústav experimentální botaniky
Ing. Martin Pulcer, Ph.D., MBA – FN Ostrava
Monika Lisoňková – Ostravská univerzita
Ing. Kateřina Sikorová, Ph.D.
Mgr. Marianna Jarošová
PharmDr. Mária Göböová, Ph.D. – FN Nitra
Ing. Petr Matějka
Ing. Petr Vaník – Nemocnice Rychnov nad Kněžnou

GRAFIK

Nina Nováková

NÁKLAD ČÍSLA

1 700 výtisků



NEJISTOTA A CHYBA MĚŘENÍ V KLINICKÉ LABORATOŘI

NEJISTOTA MĚŘENÍ

Nejistota měření je součástí každého výsledku měření. Je integrální součástí procesu metrologické návaznosti a standardizace/harmonizace. Má klíčový význam v procesech kalibrace, protože je součástí hodnot složek certifikovaných referenčních materiálů a kalibrátorů. Definice nejistoty je uvedena v odstavci 2.26 Mezinárodního metrologického slovníku VIM3 (1). Jde o parametr charakterizující rozptýlení výsledků měření. Ve vysvětlujících poznámkách k definici jsou zmíněny prvky nejistoty (systematické vlivy, směrodatná odchylka, nejistota hodnot referenčních a kalibračních materiálů, zdroje náhodných chyb), ale není uveden žádný doporučený popis a postup výpočtu. Rovněž v textu normy Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement – GUM se způsob výpočtu nejistoty měření explicitně neurčuje (2). Ani akreditační norma ISO 15189:2013, která výslovně požaduje, aby klinické laboratoře dokumentovaly hodnoty nejistot svých měření, postup jejich stanovení nespécifikuje (3). Nejistotou měření se zabývá také norma ČSN EN ISO 17025:2018 (4), která mimo jiné uvádí: „Laboratoř provádějící měření musí vyhodnocovat nejistoty měření. Tam, kde metoda neumožňuje rigorózní vyhodnocení nejistoty měření, musí se provést odhad na základě pochopení teoretických principů metody nebo praktických zkušeností z provádění dané metody.“

PROBLÉM NEJISTOTY je tedy problémem znalosti a invence pracovníků laboratoří, což mu přidává na složitosti. Proto bývá výpočet nejistoty v rutinních klinických laboratořích problematický.

V PRAXI SE v laboratoři určuje nejčastěji rozšířená kombinovaná nejistota (U_c), zatímco v certifikátech referenčních materiálů a kalibrátorů se obvykle uvádí standardní kombinovaná nejistota (u_c). Obvykle se používá koeficientu rozšíření $k = 2$ (95% konfidenční interval) a platí vztah $U_c = 2 \times u_c$. Výsledek výpočtu kombinovaných nejistot je kombinací dílčích nejistot několika veličin, přispívajících k celkové nejistotě podle pravidla o propagaci nejistot GUM.

NAVZDORY BAZÁLNÍMU významu jejich hodnot dělají její výpočty velké problémy jak pracovníkům klinických laboratoří, tak výrobcům in vitro diagnostik. Používají se různé postupy výpočtu a různé typy kalkulátorů, ty však často poskytují významně odlišné výsledky, zejména v důsledku různého počtu faktorů do výpočtu zahrnutých.

CHYBA VÝSLEDKU MĚŘENÍ

Chyba měření je ve slovníku VIM 3 definována jako rozdíl mezi jednotlivým výsledkem měřené veličiny a skutečnou hodnotou měřené veličiny. V praxi je chyba měření dána rozdílem mezi pozorovanou a referenční hodnotou. Tou může být hodnota stanovená referenční metodou nebo střední hodnota souboru (průměr nebo medián). Pro tento rozdíl se obvykle používá výraz „celková chyba měření“ (total error = TE) a obvykle se určuje pro 95% konfidenční interval. Dobře známá a léta propagovaná a realizovaná koncepce hodnocení analytické kvality podle Westgarda je založena na modelu stanovení celkové chyby měření. Je často upřednostňována díky jednoduchosti a někdy i stavěna do protikladu s koncepcí určení nejistoty podle GUM (5, 6). Studie pracovní skupiny EFLM TFG-TE (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Task and Finish group on Total Error) pro problémy celkové chyby měření (7) mnohohlavně srovnává výhody a nevýhody použití konceptu celkové chyby (TE) a nejistoty měření MU (measurement uncertainty). Dochází k závěru, že stanovení TE je pro laboratoře jednodušší, protože se s daty zdrojů celkové chyby (preciznost a bias) běžně v laboratořích pracuje, zatímco nejistota se jeví jako postup složitý až enigmatický. Podle autorů této práce by měl být přístup celkové chyby zachován hlavně pro externí hodnocení kvality. Koncepce nejistoty by měla být simultánně rozvíjena k větší dokonalosti a až poté aplikována v klinických laboratořích. U řady současných mezinárodních studií programů externího hodnocení kvality (EHK) je skutečně hodnocení účastníků a metod založeno důsledně na koncepci celkové chyby, respektive jejího přepisu do formy poněkud problematického konceptu Six Sigma (8, 9).

NEJISTOTA, STANDARDIZACE, HARMONIZACE, VALIDACE, DATA

Z řady současných sdělení z let 2015 – 2018, zejména australských a italských autorů, jsou naopak zcela zřejmá stanoviska jednoznačně preferující koncepci nejistot před celkovou chybou (5, 10).

MNOHOLETÉ EDUKAČNÍ úsilí programů EHK SEKK v této oblasti poskytlo velké množství dat, které jsou dobrou ukázkou, jak málo přátelský je výpočet vlastního odhadu nejistoty pro řadu účastníků (tabulka 1). Data v tabulce evidují extrémní rozdíly hodnot nejistot uváděných účastníky programu EHK. Nechybí ani údaje zjevně

nesmyslné (nulové hodnoty nejistot) nebo hodnoty nižší než nejistota referenčních hodnot použitých kontrolních materiálů a též hodnoty až téměř dvojnásobně překračující velikost kritéria Dmax. Je možné, že velikosti nejistot uváděné laboratořemi nejsou ani tak obrazem analytické kvality, jako spíš problémů při jejich výpočtu (např. možných záměn absolutních a relativních jednotek). Ostatně i referenční laboratoře IFCC klinické biochemie pracující výhradně definovanými referenčními metodami nejsou na tom o mnoho lépe. Také jejich údaje o nejistotách v programu IFCC RELA (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine; External Quality Control for Reference Laboratories) uvedené na webové adrese: http://www.dgkl-rfb.de:81/4Daction/g_show_Home se mezi sebou až několikanásobně liší (tabulka 1). Přitom kalkulátor nejistot SEKK který je součástí textu Doporučení ČSKB (11), může stanovení realistických hodnot nejistot významně ulehčit aplikací dat z vnitřní kontroly kvality, z výsledků EHK a z údajů o dílčích nejistotách hodnot použitých referenčních materiálů, tedy z dat, která jsou účastníkům volně přístupná. Při řádném přístupu ke kalkulaci nejistot s použitím tohoto kalkulátoru není v podstatě pro uvedené pozorované rozdíly důvod.

ZÁSADNÍM PROBLÉMEM stanovení jak nejistoty, tak chyby měření je určení hodnoty bias (b) a jeho započtení. Při výpočtech nejistot podle GUM bývá pro klinické laboratoře problémem, že GUM problém započtení bias neřeší, ale předpokládá předem redukci bias na zanedbatelnou velikost pomocí standardizace stanovení a následné vyjádření nejistoty precizností měření. V klinických laboratořích není však velmi často možné bias zanedbat a jeho započtení je pak zásadním problémem celého výpočtu nejistoty (12, 13, 14).

BEZ PŘÍMĚŘENÉ standardizace/harmonizace je tedy obtížné stanovit hodnotu bias dostatečně kvalifikovaně, což významně limituje validitu výpočtu nejistoty měření, stejně tak i validitu hodnot celkové chyby. Exaktní určení bias k výpočtu TE a MU je proto v praxi omezeno jen na určitý počet analytů a parametrů s dostatečnou mírou standardizace a harmonizace. Je kontroverzní tam, kde měření vykazuje silnou závislost na použité metodě. Nelze důsledně řešit problém nejistoty, ani chyby bez kontextu s procesy standardizace/harmonizace. Zejména v těch programech EHK, kde je nezbytné respektovat hodnocení výsledků účastníků v rámci peer group skupin, což platí pro většinu z nich, jsou výpočty celkové chyby i nejistoty silně kontroverzní. Paradoxně převládá z pochopitelných důvodů jak u laboratořích, tak u výrobců snaha vytvářet v rámci programů EHK těchto „peer“ skupin co nejvíce, často nejen

TABULKA 1: Hodnoty nejistoty měření Uc účastníků programu SEKK (cyklus AKS 2/2018) ukazují velké diference. Stejně tak i výsledky referenčních laboratořích IFCC-RELA 2017.

| Analyte | Uc průměr (%) SEKK | Interval Uc účastníků (%) | |
|-----------------|-----------------------|---------------------------|-------------|
| | | SEKK | IFCC - RELA |
| Cholesterol | 4,7 | 0 - 14 | 0,4 - 3,1 |
| Glukóza | 4,5 | 0 - 12 | 0,3 - 1,9 |
| Kalium | 3,7 | 0 - 8 | 0,5 - 1,5 |
| Natrium | 3,1 | 0 - 6,2 | 0,5 - 1,5 |
| Celkový protein | 4,6 | 0 - 11 | 0,5 - 2,3 |
| Kreatinin | 6,2 | 0 - 16 | 0,2 - 3,0 |

TABULKA 2: Chyba versus nejistota u čtyř analytů s metrologickou návazností. EHK SEKK, cyklus AKS 2/18

| Analyt/účastníci (n) | TE (%) z = 2 | TE (%) z = 1,65 | Průměr Uc (n = 123) |
|----------------------|-----------------|--------------------|------------------------|
| Sodium (348) | 3,6 | 3,1 | 3,1 |
| Potassium (348) | 5,8 | 5,1 | 3,7 |
| Glucose (357) | 6,6 | 5,8 | 4,5 |
| Creatinine (358) | 10,1 | 8,5 | 6,2 |

TABULKA 3: Uncertainty measurement budget and web calculator of uncertainties SEKK

| | |
|--------------------------|--|
| F. Braga (17) | Calculator of uncertainties in recommendation of Czech Society of Clinical Biochemistry (11) |
| Uncertainty of reference | Uncertainty of reference material values* |
| Precision | Intermediate precision (from internal quality control) |
| Calibration uncertainty | Bias (from EQA program or from verification results) |

* Only if available

TABULKA 4: Proposal of estimation of uncertainty in relation to performance of clinical interpretation

| | |
|--|---|
| Monitoring of individual patients | Precision (2 SD) |
| Interpretation by use of reference intervals in the same method | Precision (2 SD) |
| Interpretation by use of decision limits in standardized methods | Combined uncertainty from precision, bias and uncertainty of reference material |
| Calibration uncertainty | Bias (from EQA program or from verification results) |

v rámci výrobce, ale také v rámci „generace“ metody a dokonce i v rámci výrobní šarže. Tím je sice úspěch hodnocení úspěšnosti laboratořích, metod a platform v podstatě zajištěn, ale harmonizace výsledků a kalkulace nejistot měření je téměř vyloučena. To je příčinou silné závislosti výsledků na použitých metodách a představuje zásadní problém harmonizace laboratorních výsledků

a personalizace medicíny se všemi zdravotními a ekonomickými důsledky.

SAMOTNÁ NEJISTOTA měření je součástí konceptu metrologické návaznosti, standardizace a harmonizace. Mimo tento rámec, mimochodem velmi široký a zabírající větší část činnosti klinické laboratoře, převládá stanovisko, že by měla být nejistota kvantifikována pouze precizností měření (jako hodnota 2 SD nebo 2 CV%).

DOST OBECNĚ se přijímá fakt, že přístup TE je vhodnější a praktičtější pro hodnocení analytické kvality, zejména v programech EHK (7, 8, 9), přístup nejistoty pak pro klinickou aplikaci výsledků (15, 16, 17).

V TABULCE 2 je ukázka srovnání číselných hodnot celkových chyb získaných výpočtem z průměrných hodnot reprodukovatelnosti a bias všech účastníků u cyklu EHK SEKK AKS 2/18 a nejistot udaných účastníky tohoto cyklu při stanovení stejných analytů. Diference mezi chybami a nejistotami jsou závislé na zvoleném analytu a koeficientu – statistickém násobku z (1,65 nebo 2) ve výpočtu celkové chyby TE. Nelze je velmi často zanedbat.

DIFERENCE PRAMENÍČÍ z použití dvou různých koeficientů rozšíření se vyskytují v publikacích zcela běžně a ukazují, že ani statistické výpočty kritérií kvality nejsou dostatečně harmonizované.

GUM ZNÁ DVĚ zásadní metody výpočtu nejistoty měření – přístupy „top-down“ a „bottom-up“. V klinické laboratoři je logické volit ke stanovení nejistoty postup „top-down“, což znamená použití dílčích nejistot, získaných měřením preciznosti, bias, započtením nejistot referenčních (kalibračních) materiálů a jejich následnou kombinací (propagací dílčích nejistot) do hodnoty celkové kombinované nejistoty. Celková kombinovaná nejistota (uc) je následně přepočtena na rozšířenou nejistotu (Uc), obvykle koeficientem rozšíření $k = 2$ pro 95% konfidenční interval.

ALTERNATIVNÍ POSTUP typu „bottom-up“, hodnotící celkovou nejistotu jako kombinaci (propagaci) dílčích nejistot dílčích procesů celého měřicího postupu (nejistoty vzorkování, izolace, separace, přístrojových faktorů, analýzy dat atd.) je velmi náročný a těžko aplikovatelný v klinických laboratořích. Je však používán jako metoda volby při stanovení nejistoty hodnot certifikovaných referenčních materiálů (například v referenčních materiálech NIST SRM).

STRUČNĚ A JASNĚ je celý postup včetně nepřerušovaného řetězce metrologické návaznosti

shrnut v práci italských autorů (15). Práce přesvědčivě dokazuje, že výpočet nejistoty je v podstatě dost jednoduchý a že jeho chápání jako „nepřátelská“ záležitost je nepodložené. V tabulce 3 je ukázána ekvivalence postupu stanovení nejistoty podle Bragy (16) a pomocí kalkulátoru nejistot SEKK (11) potvrzující dříve zmíněný názor, že i výpočet nejistot v rutinních laboratořích účastníků programu SEKK by neměl být neúměrně obtížný a mohl by být bez zásadních těžkosti kvalitnější než dosud.

CO BY MĚL (a doufejme, že v budoucnu bude muset) poskytnout výrobce analytických platform a testovacích souprav klinickým laboratořím podle chystané inovované normy metrologické návaznosti ISO 17511 (17)? Především dostatečný a kvantitativní popis metrologické návaznosti kalibrátorů a hodnoty nejistot pracovních kalibrátorů. To by přineslo zjednodušení a zlepšení výpočtů celkových rozšířených kombinovaných nejistot (Uc) v klinických laboratořích (viz tabulka 3). Zatím se výrobci většinou spokojují se stručnou slovní deklarací návaznosti, někdy chybí i ta. Braga a spol. publikovali (16) informace o tom, jaká data o nejistotách kalibrátorů uvádějí globální výrobci diagnostik IVD pro stanovení kreatininu. Hodnoty standardních nejistot (uc) komerčních kalibrátorů měly nesmyslně velký rozsah (0,3 – 5,1 %). Tato data nejsou navíc součástí pracovních návodů a jsou poskytována jen na přímé vyžádání. Lze říci, že výrobci diagnostik a částečně také referenční laboratoře mají s výpočty nejistot měření podobné problémy jako rutinní klinické laboratoře.

STEJNÍ AUTOŘI studie se pokusili kvantifikovat optimální podíly dílčích nejistot na celkových nejistotách. Došli k závěrům, že maximálně 1/3 celkové kombinované nejistoty uc by měla připadnout na referenční procesy, maximálně 50% uc by mělo připadnout na preciznost laboratoře, zbytek by měl být rezervován pro další náhodné efekty, včetně lot-to-lot variabilit při výměnách šarží reagentů a kalibrátorů. Asi nelze očekávat obecný souhlas s těmito číselnými daty, nicméně úzká souvislost mezi referencí, rutinním měřením a stabilitou šarží reagentů a analytických platform je jasná.

NEJISTOTA A CHYBA V KONTEXTU S KLINICKOU INTERPRETACÍ VÝSLEDKŮ MĚŘENÍ

Velikost nejistoty významně ovlivňuje kvalitu a efektivitu klinické interpretace výsledků. Hodnoty nejistot by neměly významně ovlivnit referenční intervaly a měly by být nižší než hodnoty RCV (reference change values, referenční změny po sobě následujících výsledků měření). Italští autoři demonstrují tyto premisy vyhodnocením

TABULKA 5: Influence of uncertainty on the decision limits

| Analyte | Cut off | Uc | Cut off interval |
|-------------------------|-------------|-------------------|------------------|
| Glucose | 7 mmol/l | 0,4 mmol/l (5,7%) | 6,6 -7,4 mmol/l |
| Glyk. haemoglobin HbA1c | 48 mmol/mol | 2 mmol/mol (4,2%) | 46 - 50 mmol/mol |
| PSA | 4 µg/l | 1 µg/l (25%) | 3 - 5 µg/l |
| cTnl | 16 ng/l | 3 ng/l (19%) | 13 - 19 ng/l |

TABULKA 6: RCV and APS values, derived from biological variation according EuBIVAS

| Analyte | RCV (%) | APS EuBIVAS (%) | APS EuBIVAS (%) | APS INPUTS (%) | APS RCPA-QAP (%) | Uc (%) SEKK 2018 |
|-----------------------|---------|-----------------|-----------------|----------------|------------------|------------------|
| | | z = 1,65 | z = 1,96 | z = 2 | | |
| Sodium | 1,6 | 0,6 | 0,7 | 1,1 | 2 | 3,1 |
| Potassium | 2,5 | 4,5 | 5,4 | 8,4 | 5 | 3,7 |
| Calcium | 4,8 | 2,1 | 2,6 | 3,8 | 4 | 3,9 |
| Phosphate | 21 | 8,9 | 10,8 | | 8 | 5,2 |
| Cholesterol | 13 | 7,3 | 8,8 | 13,5 | 6 | 4,7 |
| Chol-LDL | 22,2 | 12 | 14,5 | | | |
| Chol-HDL | 14,6 | 9 | 10,9 | 17,4 | 12 | |
| Triacylglycerides | 55 | 23 | 29,7 | | 12 | 5,2 |
| Glucose | 11,6 | 5,7 | 6,9 | 10,5 | 8 | 4,5 |
| Urea | 34,2 | 15,3 | 18,6 | | 12 | 6,1 |
| Uric Acid | 19,7 | 9,9 | 12 | | 8 | 4,8 |
| Protein total | 6,7 | 3,1 | 3,8 | 3,8 | 5 | 4,6 |
| Bilirubin | 63 | 26,4 | 32 | | 12 | 7,2 |
| Creatinine -enzymatic | 12,7 | 6,4 | 7,6 | | 8 | 6,2 |
| Creatinine -Jaffé | 17,8 | 7,1 | 8,4 | | | 6,2 |

NOTICES: **APS** - analytical performance specifications derived from biological variation (20, 21, 22). **RCV** - reference change values in two consecutive measurements derived from analytical precision and intraindividual biological variation. **EuBIVAS** - working group EFLM for biological variation **RCAP QAP** - provider of Australian system in external quality assurance. **INPUTS** - international survey of EQA in Europe 2017 (9)

vlivu nejstot na referenční intervaly a na referenční změny hodnot RCV u dvanácti vybraných analytů (18). U dvou z testovaných analytů by k negativnímu ovlivnění referenčních intervalů docházet mohlo (sodný kation a celkový protein). U hodnot RCV je nepříznivé ovlivnění hodnot RCV nejistotou měření vlivem nejistoty mnohem výraznější než u organických substrátů, lipidů a enzymů (ovšem za podmínky použití standardizovaných metod) v důsledku nízkých biologických variací a úzkých referenčních limitů elektrolytů. V případech, kdy neexistuje metrologická návaznost měření a z toho plynoucího omezení možnosti kvalifikovaného stanovení hodnoty bias, je vhodné omezit stanovení nejistoty na preciznost a kompletní výpočet kombinované nejistoty ponechat na případy měření s definovanou metrologickou návazností.

ZA POVŠIMNUTÍ STOJÍ snaha diferencovat mezi způsobem výpočtu nejstot u různě pojatých interpretací výsledků - při průběžném sledování stavu pacienta, při aplikaci referenčního intervalu

k diagnóze a při aplikaci rozhodovacího limitu k diagnóze (tabulka 4). Tabulka 5 pak jednoduchým způsobem připomíná, jak mohou být rozhodovací limity známé z mezinárodních lékařských doporučení ovlivněny nejistotou měření.

TYTO ASPEKTY a souvislosti nejstot měření s interpretací výsledků by měly hrát v činnosti klinických laboratoří v éře personalizované medicíny zásadní roli, k čemuž je zatím ve skutečnosti dost daleko.

V TABULCE 6 jsou uvedeny souvislosti hodnot nejstot s hodnotami kontrolních mezí EHK, podle strategické koncepce EFLM označovaných jako analytical performance specifications (APS; 22), s hodnotami RCV (kritických rozdílů dvou následných měření) u rutinních analytů krevního séra s existující metrologickou návazností. V tabulce bylo použito aktuálních dat ze studií pracovní skupiny EFLM pro biologickou variabilitu EuBIVAS (19,20,21).

POJEM APS, jak byl definován EFLM v roce 2015 (22), je ekvivalentní pojmu maximální akceptovatelná rozšířená nejistota měření ($U_{c,max}$), jak je definována novou normou metrologické návaznosti i pro prostředky IVD (18). Hodnoty biologických variabilit jsou v současnosti jediným opěrným bodem, z něhož lze hodnoty APS ($U_{c,max}$) a RCV rozumně odvozovat. Hodnoty APS jsou navíc v australském programu EHK RCPA QAP (The Royal College of Pathologists of Australasia – Quality Assurance Programms) považovány za „momentálně referenční“ pro ostatní programy EHK. Hodnoty U_c účastníků programu SEKK z roku 2018 jsou určeny k posouzení kapacity českých laboratoří splnit klinické požadavky (hodnoty RCV) standardizovaných laboratorních vyšetření základních analytů séra. Z dat tabulky 6 lze uvést následující závěry:

- Při stanovení elektrolytů jsou často hodnoty nejistot vyšší než hodnoty RCV, což může mít za následek komplikace při klinických interpretacích jednotlivých výsledků.
- Při stanovení organických substrátů, lipidových analytů a enzymů jsou hodnoty RCV většinou významně vyšší než hodnoty nejistot, což je vhodná situace pro klinickou interpretaci.

HODNOTY APS jsou v současnosti v závislosti na různých zdrojích významně odlišné, přestože jsou odvozeny pomocí stejného principu biologických variabilit. Příčinou rozdílů jsou často rozdílné hodnoty používaných koeficientů rozšíření (od 1,65 po 2,0) a také kategorizace APS na maximální, ideální (desired) a minimální. Hodnoty APS EuBIVAS jsou definovány jako ideální, hodnoty INPUTS v tabulce jsou minimálními požadavky. Výpočty a interpretace chyby a nejistoty vyžadují podstatně vyšší stupeň harmonizace, než je dosaženo v literatuře, o praxi v rutinních laboratořích nemluvě.

ZÁSADNÍ ZLEPŠENÍ harmonizace měření v celosvětovém měřítku je „conditio sine qua non“ pro naléhavě potřebné zvýšení objektivity kritérií analytické kvality.

NEJISTOTA BEZ METROLOGICKÉ NÁVAZNOSTI

Padoan (18) a řada dalších autorů, včetně doporučení GUM, chápou nejistotu měření v kontextu s metrologickou návazností, hodnotami pravdivosti (bias) a standardizací. Při absenci standardizace se omezují na vyjádření nejistoty jen pomocí preciznosti. Čínští autoři se pokusili stanovit odhad nejistot podle dat vlastní EHK, jen kombinací preciznosti a bias. Hodnoty bias počítají jako rozdíly výsledků laboratoří od průměru metodických skupin, tedy bez akcentu na metrologickou návaznost (23). Hodnoty nejistot

získané z výsledků 146 čínských účastníků programu EHK byly však po přepočtu z dat, autory uvedených, prakticky shodné s hodnotami celkových chyb měření. Navíc byly závislé na použitých metodách měření. Jedná se o terminologickou nejasnost a přímé směřování pojmů chyby a nejistoty. Snad bude tento sémantický problém vyřešen již výše zmíněnou inovovanou normou ISO 17511, která však, jak již bylo uvedeno, rovněž nerozlišuje chybu od nejistoty, jednoznačně preferuje pojem nejistoty a s pojmem chyby vůbec nepracuje.

VELMI AKTUÁLNÍ a nepříliš analyzovaná je otázka určení nejistoty imunochemických měření. Problém určení nejistoty se spatřuje v nedostatku referenčních materiálů a referenčních metod (25). U imunochemických stanovení jsou zatím k dispozici pouze referenční materiály pro specifické sérové proteiny (ERM DA 470k/IFCC), cystatin C (ERM DA 471/IFCC) a CRP (ERM DA 472/IFCC). V těchto případech jsou výpočty nejistot shodné s již uvedenými postupy u plně standardizovaných metod, včetně započtení hodnoty bias.

SHRNUTÍ

Není k dispozici celosvětový jednotný a podrobný algoritmus výpočtu nejistot pro zdravotnické laboratoře.

NEJLEPŠÍM ZPŮSOBEM je použití vhodných kalkulátorů založených na top-down přístupu, tedy na datech vnitřní kontroly kvality, externího hodnocení kvality a nejistotách referenčních (kontrolních nebo kalibračních) materiálů.

NEJISTOTA VÝSLEDKŮ měření velmi úzce souvisí s jeho metrologickou návazností a standardizací. Hodnoty nejistot u analytů bez metrologické návaznosti jsou kontroverzní. Relevantně lze zde popsat jen dílčí nejistoty odpovídající preciznosti měření, ale ne složky systematických diferencí. Současná situace u akreditací laboratoří v současnosti nedovoluje jednoznačně diferencovat mezi chybou a nejistotou. Současný trend normy metrologické návaznosti nerozlišuje nejistotu od chyby a výraz nejistota jednoznačně preferuje. Naopak pojem celkové chyby (případně od ní odvozené sigmometrie) zůstává v běžném použití zejména pro mezilaboratorní porovnávání.

VELIKOST NEJISTOTY měření by neměla mít signifikantní vliv na hodnoty referenčních intervalů, rozhodovacích mezí a referenčních změn měření (RCV). Nové normy ISO 17025 (i nově připravovaná ISO 15189:2020) a doporučení metrologické návaznosti pro IVD prostředky (17) používají výhradně koncepci nejistot a vyhýbají se důsledně pojmu chyba.

LITERATURA

1. TNI 01 0115:2009: Mezinárodní metrologický slovník - Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny (VIM 3, UNMZ 2009).
2. Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM). ISO, Geneva 1995, ISBN 92-67-10188-9,
3. ČSN EN ISO 15189 ed. 2: 2013. Zdravotnické laboratoře - Požadavky na kvalitu a způsobilost. ČAS 2013.
4. ČSN EN ISO/IEC 17025:2018 Všeobecné požadavky na kompetenci zkušebních a kalibračních laboratoří. ČAS 2018.
5. Farrance I, Badrick T, Frenkel R.: Uncertainty in measurement and total error: different roads to the same quality destination? Clin Chem Lab Med 2018 56/12:2010-2014.
6. Westgard JO, Westgard SA.: Measuring analytical quality. Total analytical error versus measurement uncertainty. Clin Lab Med 2017, 37: 1-13.
7. Oosterhuijs WP, Bayat H, Ambruster D, Coskun A, Freeman KP, Kallner A a spol.: The use of error and uncertainty methods in medical laboratory. Clin Chem Lab Med 2018,56/2:209-219.
8. The EurA1c Trial Group: EurA1c: the European HbA1c Trial to Investigate the Performance of HbA1c Assays in 2166 Laboratories across 17 Countries and 24 Manufacturers by Use of the IFCC Model for Quality Targets. Clin Chem 2018, 64/8:1183-1192.
9. Weykamp C, Secchiero S, Plebani M, Thelen M, Cobbaert C, Thomas A a spol.: Analytical performance of 17 general chemistry analytes across countries and across manufacturers with INPUTS project of EQA organizers in Italy, the Netherlands, Portugal, United Kingdom and Spain. Clin Chem Lab Med 2016, 55:203-211.
10. Braga F, Infusino I, Panteghini M.: Performance criteria for combined uncertainty budget in the implementation of metrological traceability. Clin Chem Lab Med 2015, 53:905-912.
11. Kalkulátor nejistot pro zdravotnické laboratoře. Dostupné na: www.sekk.cz/infoservis/2014_nejistoty_doporuceni.pdf
12. Plzák Z.: Jak se liší ČSN EN ISO/IEC 17025:2005 od ČSN EN ISO/IEC 17025:2018 - kvantitativní pohled? FONS 4 2018
13. Synek V, Plzák Z.: Odhad nejistoty chemických měření se započtením vychýlení. Metodický list 16. Eurachem ČR 2017. Dostupné na www.eurachem.cz
14. Magnusson B, Ellison SLR.: Treatment of uncorrected bias in uncertainty estimation for chemical measurements. Anal Bioanal Chem 2008, 390:201 - 213.
15. Infusino I, Panteghini M.: Measurement uncertainty: friend or foe? Clin Biochem 2018,57:3-6.
16. Braga F, Panteghini M.: Defining permissible limits for the combined uncertainty budget in the implementation of metrological traceability. Clin Biochem 2018, 57:7-11.
17. ISO FDIS 17511:2019. In vitro diagnostic medical devices — Requirements for establishing metrological traceability of values assigned to calibrators, trueness control materials and human samples. ISO Geneva (TC 212).
18. Padoan A, Sciacoveli L, Aika A, Antonelli G, Plebani M.: Measurement uncertainty in laboratory reports: A tool for improving the interpretation of test results. Clin Biochem 2018, 57:41-47.
19. Aarsand AK, Diaz-Garzón J, Fernández-Calle P, Guerra E, Locatelli M. a spol.: The EuBIVAS: within and between-subject biological variation data for electrolytes, lipids, urea, uric acid, total protein, total bilirubin, direkt bilirubin and glucose. Clin Chem 2018, 64/9:1380-1393.
20. Carobene A, Roraas T, Solvik U, Sylte MS, Sandberg S, Guerra E a spol.: Biological variation estimates obtained from 91 healthy study participants for 9 enzymes in serum. Clin Chem 2017, 63:1141-1150.
21. Carobene A, Marino I, Coskum A, Serteser M, Unsal I, Guerra E a spol.: The EuBivas project within- and between - subject biological variation data for serum creatinine using enzymatic and alkaline picrate methods and implications for monitoring. Clin Chem 2017, 63/9:1527-1536.
22. Sandberg S, Fraser CG, Horvath AR, Jansen R, Jones G, Oosterhuis W a spol.: Defining analytical performance specification: Consensus statement from the 1st strategic conference of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Clin Chem Lab Med 2015, 53:833-836.
23. Qin Y, Zhou R, Wang W, Yin H, Yang Y, Yue Y a spol.: Uncertainty evaluation in clinical chemistry, immunoassay, hematology and coagulation analytes using only external quality assessment data. Clin Chem Lab Med 2018, 56/9:1447-1457.
24. Beck SC, Lock RJ.: Uncertainty of measurement: an immunology laboratory perspective. Ann Clin Biochem 2015, 52:7-17.

RNDR. BEDŘICH FRIEDECKÝ, PH.D.

ÚSTAV KLINICKÉ BIOCHEMIE A DIAGNOSTIKY

LF A FN HRADEC KRÁLOVÉ,

SOKOLSKÁ 581, 500 03 HRADEC KRÁLOVÉ

E-MAIL: FRIEDECKY@SEKK.CZ

RNDR. JOSEF KRATOCHVÍLA

SEKK SPOL. S R. O. PARDUBICE

ZA PASÁŽÍ 1609, 530 02 PARDUBICE

E-MAIL: KRATOCHVILA@SEKK.CZ



POTENCIÁL VYUŽITÍ INTERLEUKINU 6 A VYSOCE SENSITIVNÍHO TROPONINU I V DIAGNOSTICE VÝDUTÍ BŘIŠNÍ AORTY

ABSTRAKT

Výduť břišní aorty (Abdominal Aortic Aneurysm, AAA) je výsledkem multifaktoriálních patofyziologických procesů, při kterých hraje klíčovou roli zánětlivá reakce ve stěně aorty. Cílem naší studie bylo ověřit možnosti využití IL-6, jako zástupce skupiny zánětlivých markerů, v diagnostice AAA. Dále jsme se rozhodli ověřit možnosti využití vysoce senzitivního testu troponinu I pro využití predikce kardiálního poškození u pacientů s AAA. Hodnotili jsme soubor 74 pacientů s AAA a skupinu 70 zdravých osob. Koncentrace IL-6 a hsTnI v sérových vzorcích byla stanovena chemiluminiscentními soupravami ACCESS IL-6 a ACCESS hsTnI (Beckman Coulter, Brea, CA, USA). Při porovnání hladin IL-6 a hsTnI ve skupině pacientů a zdravých kontrol Wilcoxonovým testem jsme zaznamenali signifikantně vyšší hladiny u pacientů s AAA ($p < 0.0001$ pro oba biomarkery). Po provedení ROC analýzy jsme získali velmi dobré ROC křivky s vysokými hodnotami AUC (0,7935 pro IL-6 a 0,8318 pro hsTnI). Laboratorní hodnoty biomarkerů u pacientů s AAA chápeme v současné době jako vhodný doplněk k monitoraci vývoje AAA pomocí zobrazovacích metod. Oba testované biomarkery jsou vhodnými kandidáty na zařazení do širší skupiny parametrů, které by při společném vyhodnocení mohly přispět ke zlepšení diagnostiky a zejména prognózy vývoje AAA.

ÚVOD

V posledních letech se ustálil pohled na etiopatogenezi výdutí břišní aorty (Abdominal Aortic Aneurysm, AAA). Díky rozsáhlému celosvětovému výzkumu na tomto poli nyní chápeme etiopatogenezi AAA jako multifaktoriální proces, v němž hraje klíčovou roli zánětlivá reakce ve stěně aorty. Ta je zcela jasně a opakovaně prokázána jako infiltrace zejména tunica media a tunica adventitia aorty různými typy zánětlivých buněk, které secernují celou řadu cytokinů, které dále ovlivňují extracelulární matrix (1). Právě porucha tvorby extracelulární matrix je další klíčový krok v patogenezi AAA, její zvýšená degradace, úbytek a porucha funkce buněk hladké svaloviny a deregulace apoptózy zejména v buňkách hladké svaloviny (2, 3). Veškeré tyto procesy jsou doprovázeny určitým „odrazem“ v krvi. Dochází ke změnám plazmatických či sérových hladin biochemických markerů, které jsou bezprostředně spojeny s těmito změnami. Výzkum těchto biomarkerů je celosvětově velmi rozsáhlý. Důvodem je nejen neustálý vzestup incidence

AAA v rozvinutých zemích (4 - 6), ale i skutečnost, že riziko ruptury nespočívá pouze v rozměru výdutě. Nalézáme rupturu rovněž u malých AAA (7), zatímco velká aneuryzmata zůstávají stabilní. To nás opravňuje k přesvědčení, že stabilita stěny AAA závisí kromě vlastního rozměru také na míře aktivity proteolytických enzymů, na vystupňované degradaci extracelulární matrix a s tím souvisejícím stupni zánětlivé reakce probíhající ve stěně výdutě. Cílem analýz různých biochemických markerů je zaprvé lépe pochopit etiopatogenezi AAA a zadruhé pokusit se ideálně najít ukazatel potencionálně rizikových, rychle progredujících výdutí, jež hrozí rupturou dříve, nežli bychom očekávali vzhledem k jejich velikosti. Z těchto důvodů najdeme v literatuře celou řadu studií zabývajících se touto problematikou. Mezi nejčastěji citované markery patří interleukin (IL-6), tumor necrosis factor (TNF-alfa), matrixmetaloproteinázy (MMP), zejména MMP-2 a MMP-9, jejich tkáňový inhibitor (TIMP), serum-elastin-peptid (SEP), osteopontin, osteoprotegrin a řada dalších (8 - 10). Je však nutno přiznat, že v klinické praxi zatím tyto biomarkery nenašly výraznější uplatnění.

Naše práce se zaměřila zejména na ty skupiny markerů, které jsou známky zánětlivé infiltrace ve stěně aorty, resp. markery regulující zánětlivou odpověď a regulující apoptózu buněk hladké svaloviny. Jako zástupce této skupiny uvádíme v tomto článku IL-6. Dále jsme se rozhodli ověřit možnosti využití testu hsTnI pro využití predikce kardiálního poškození u pacientů s AAA. Cílem je posunout se tak díky těmto výsledkům dál nejen v pochopení etiopatogeneze AAA, ale i v možnostech identifikace „rizikových“ výdutí, u nichž dochází k rapidní progresi degradace stěny a tím ke zvýšenému riziku rychlého nárůstu a event. ruptury výdutě.

METODIKA

SKUPINA NEMOCNÝCH

Pacienti s AAA byli vybraní nemocní přijatí do naší fakultní nemocnice k chirurgické či endovaskulární léčbě výdutě, resp. dispenzarizovaní nemocní s AAA přijatí ke kontrolnímu vyšetření. Vylučovacím kritériem byly jakékoliv malignity, infekčním zánětlivé či autoimunitní choroby. Krevní vzorky byly odebrány ve standardní čas, uoperovaných nemocných předoperačně. Celkem bylo analyzováno 74 nemocných s AAA. Všichni účastníci studie podepsali plný informovaný souhlas s odběrem i dalším využitím krevních vzorků. Charakteristika jak souboru nemocných s AAA, tak kontrolní skupiny je uvedena v Tabulce 1.

KREVNÍ VZORKY A ANALYTICKÉ METODY

Vzorky krve byly odebírány standardním způsobem z kubitální žíly pomocí odběrového systému VACUETTE® (Greiner Bio-One, Kremsmünster, Rakousko). Sérum bylo separováno centrifugací 10 minut při 1700 ×g. Vzorky byly alikvotovány a zamraženy na -80°C. Teplota po celou dobu uskladnění byla centrálně monitorována. Vzorky byly rozmrazeny pouze jednou – před vlastní analýzou. Koncentrace IL-6 a hsTnI v sérových vzorcích byla stanovena chemiluminiscenčními soupravami ACCESS IL-6 a ACCESS hsTnI (Beckman Coulter, Brea, CA, USA).

STATISTICKÉ METODY

Ke statistickému vyhodnocení byl použit program Statistical Analysis Software 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Jsou uvedeny základní deskriptivní statistické parametry: průměr, medián, minimum, maximum, dolní kvartil a horní kvartil. K porovnání distribuce hladin IL-6 a hsTnI ve skupině pacientů s AAA a kontrolní skupině zdravých osob byl použit Wilcoxonův test. Hladina statistické významnosti byla stanovena jako $p \leq 0.05$. Dále byly sestrojeny Receiver Operating Characteristic (ROC) křivky a vypočítána plocha pod křivkou, Area Under the Curve (AUC).

VÝSLEDKY

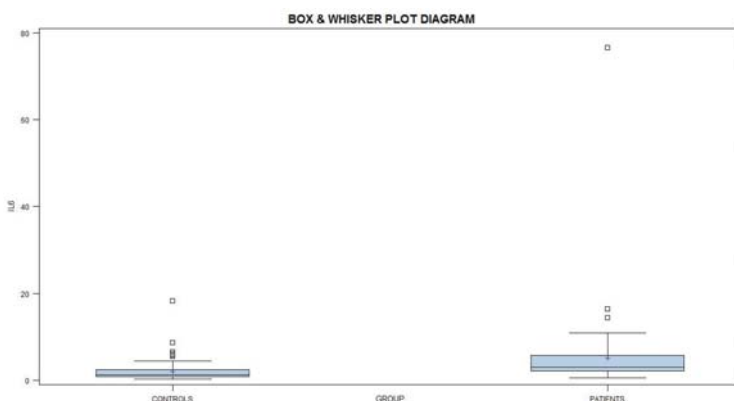
Nejdříve jsme porovnali hladiny IL-6 a hsTnI ve skupině pacientů a zdravých kontrol. U obou biomarkerů jsme zaznamenali signifikantně vyšší hladiny u pacientů s AAA ($p < 0.0001$) oproti skupině zdravých osob. Výsledky ukazuje Tabulka 2 a Grafy 1 a 2. Po provedení ROC analýzy jsme získali velmi dobré ROC křivky s vysokými hodnotami AUC (0,7935 pro IL-6 a 0,8318 pro hsTnI). Výsledky ROC analýzy ukazuje Tabulka 3 a Grafy 3 a 4.

DISKUZE

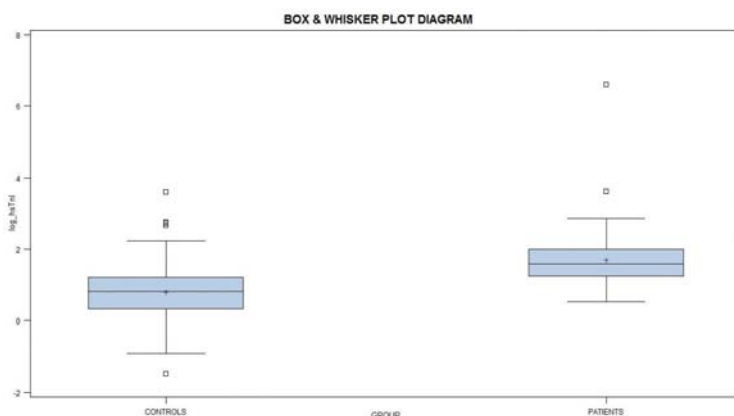
V posledních letech bylo publikováno velké množství studií, které se zabývají analýzou nejrůznějších biochemických markerů u nemocných s aneurysmatem břišní aorty (2, 8, 11, 12). Cíle těchto studií lze obecně rozdělit do několika skupin. Asi nejčastější je snaha detektovat ukazatele zánětlivé reakce probíhající ve stěně aorty jako potencionálního monitoringu nestability aortální stěny a tím i zvýšeného rizika ruptury výdutě. Zánětlivé buňky, jako

jsou aktivované makrofágy, monocyty či eozinofily, produkují celou řadu cytokinů. Mezi nejčastěji stanovované patří interleukiny IL-1, IL-6, IL-10, Vascular cell adhesion molecule-2 (VCAM-2), Tumor necrosis factor-alfa (TNF-alfa), Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), Vascular endothelial growth

GRAF 1: Hladiny IL-6 u pacientů s AAA vs. kontrolní skupina



GRAF 2: Hladiny hsTnI u pacientů s AAA vs. kontrolní skupina



TABULKA 1: Charakteristika pacientů s AAA

| | Pacienti s AAA (n=74) | Kontrolní skupina (n=70) |
|----------------------------------|-----------------------|--------------------------|
| Muži (%) | 81 | 64 |
| Průměrný věk (roky) | 55 | 56 |
| Průměr výdutě (mm) | 65 | - |
| Kuřáci (%) | 55 | 46 |
| Diabetes mellitus (%) | 12 | 7 |
| Hypertenze (%) | 61 | 40 |
| Ischemická choroba srdeční (%) | 29 | 19 |
| Periferální cévní onemocnění (%) | 15 | 5 |

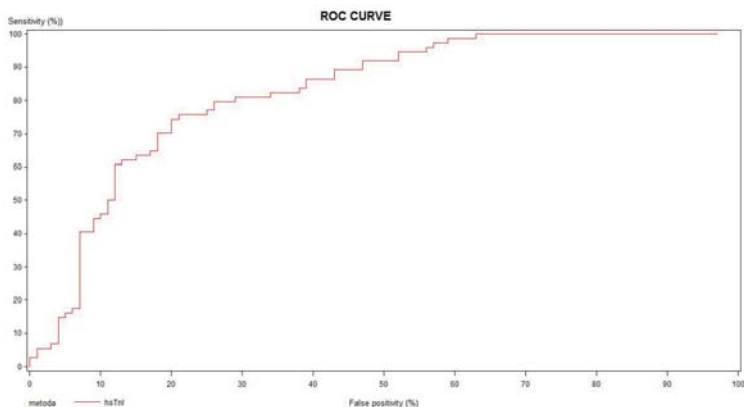
TABULKA 2: Hladiny biomarkerů u pacientů s AAA a zdravých kontrol

| Biomarker | Stav | Průměr | Medián (Min - Max) | Dolní kvartil | Horní kvartil | Průměr Uc (n = 123) |
|--------------|----------|--------|---------------------|---------------|---------------|---------------------|
| IL6 (pg/ml) | AAA | 5.09 | 3.03 (0.58 - 76.72) | 2.16 | 5.76 | <0.0001 |
| | Kontroly | 2.03 | 1.36 (0.18 - 18.35) | 0.88 | 2.42 | |
| hsTnI (ng/l) | AAA | 16.30 | 4.90 (1.70 - 754) | 3.50 | 7.40 | <0.0001 |
| | Kontroly | 3.25 | 2.25 (0.23 - 37.30) | 1.40 | 3.35 | |

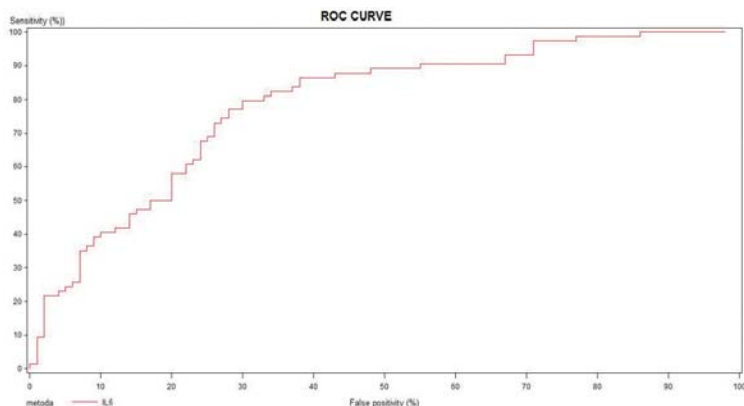
TABULKA 3: Hodnoty AUC u pacientů s AAA vs kontrolní skupina

| Biomarker | AUC | 95% interval spolehlivosti | |
|-----------|--------|----------------------------|--------|
| IL6 | 0.7935 | 0.7237 | 0.8633 |
| hsTnl | 0.8318 | 0.7681 | 0.8954 |

GRAF 3: ROC křivka IL-6 pacienti s AAA vs. kontrolní skupina



GRAF 4: ROC křivka hsTnl pacienti s AAA vs. kontrolní skupina



factor (VEGF) a další. Autoři publikovali mnoho prací na toto téma, často s nejednotnými a někdy až protichůdnými závěry (11). Dosud se jako jeden z nejvíce signifikantních markerů jevil IL-6, pravděpodobně je mimo jiné přímo secernován tkáněmi AAA (13). O jeho receptoru IL-6R bylo uvažováno jako o přímém cíli, event. farmakologické terapie. V naší práci jsme prokázali statisticky významně zvýšené hladiny IL-6 u pacientů s AAA ($p < 0,0001$) oproti skupině zdravých osob. Je to v souladu s již publikovanými pracemi mimo jiné i z našeho týmu (14, 15). Po provedení ROC analýzy jsme získali velmi dobrou hodnotu AUC (0,7935). IL-6 je sice jako marker zánětu nespecifický, ale námi dosažené výsledky ho kvalifikují do skupiny biomarkerů AAA, které by mohly při společném hodnocení pomoci v predikci závažnosti zánětlivého procesu v cévní stěně, a označit tak pacienty s rizikovými výdutěmi, jak je uvedeno výše.

Pro analýzu hsTnl, který je nyní běžně užíván v klinické praxi jako marker srdečního poškození, jsme se rozhodli vzhledem k opakovaně prokázanému

vztahu hsTnl k jiným kardiovaskulárním chorobám (12). Zvýšené hladiny hsTnl by tedy zcela zapadaly do námi chápaného schématu patogeneze AAA a zejména jeho progresu se změnami poddajnosti tepenné stěny. V naší práci jsme prokázali velmi vysokou míru korelace mezi hladinami hsTnl a přítomností AAA ($p < 0,0001$). Po provedení ROC analýzy jsme získali vysokou hodnotu AUC (0,8318). Tento výsledek naznačuje, že s nástupem nové generace vysoce sensitivních troponinových testů dochází k rozšíření indikačního pole pro troponiny. Jednou z oblastí může být rovněž predikce rizika kardiálního poškození u pacientů s AAA.

ZÁVĚR

Laboratorní hodnoty biomarkerů u pacientů s AAA chápeme v současné době jako vhodný doplněk k monitoraci vývoje AAA pomocí zobrazovacích metod. Velkým úspěchem by bylo vytvořit skupinu biomarkerů, která by zásadním způsobem přispěla k odhalení rizikových výdutí ve smyslu funkčním, nikoliv morfologickým. Možný přínos vidíme u AAA s menším průměrem, u nichž je tendence považovat je za méně nebezpečné z hlediska rizika ruptury. Biomarkery by tak mohly změnit léčebné rozhodnutí správným směrem. I když jsou naše výsledky s dosud testovanými biomarkery povzbudivé, hledání vhodných biomarkerů AAA zůstává do budoucna stále velkou výzvou.

REFERENCES

1. Eagleton MJ. Inflammation in abdominal aortic aneurysms: cellular infiltrate and cytokine profiles. *Vascular*. 2012 Oct;20(5):278-83.
2. Tang W, Yao L, Hoogeveen RC, Alonso A, Couper DJ, Lutsey PL, et al. The Association of Biomarkers of Inflammation and Extracellular Matrix Degradation With the Risk of Abdominal Aortic Aneurysm: The ARIC Study. *Angiology*. 2018 26;3319718785278.
3. Didangelos A, Yin X, Mandal K, Saje A, Smith A, Xu Q, et al. Extracellular matrix composition and remodeling in human abdominal aortic aneurysms: a proteomics approach. *Mol Cell Proteomics MCP*. 2011 Aug;10(8):M111.008128.
4. Schermerhorn ML, Birkmeyer JD, Gould DA, Cronenwett JL. Cost-effectiveness of surgery for small abdominal aortic aneurysms on the basis of data from the United Kingdom small aneurysm trial. *J Vasc Surg*. 2000 Feb;31(2):217-26.
5. Ying AJ, Affan ET. Abdominal Aortic Aneurysm Screening: A Systematic Review and Meta-analysis of Efficacy and Cost. *Ann Vasc Surg*. 2019 Jan;54(1):298-303.
6. van Schaik TG, Yeung KK, Verhagen HJ, de Bruin JL, van Sambeek MRHM, Balm R, et al. Long-term survival and secondary procedures after open or endovascular repair of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*. 2017;66(5):1379-89.
7. Schermerhorn ML, Cronenwett JL. The UK small aneurysm trial. *J Vasc Surg*. 2001 Feb;33(2):443.
8. Lindberg S, Zarrouk M, Holst J, Gottsäter A. Inflammatory markers associated with abdominal aortic aneurysm. *Eur Cytokine Netw*. 2016 Sep 1;27(3):75-80.

9. Ohno T, Aoki H, Ohno S, Nishihara M, Furusho A, Hiro-matsu S, et al. Cytokine Profile of Human Abdominal Aortic Aneurysm: Involvement of JAK/STAT Pathway. *Ann Vasc Dis.* 2018 Mar 25;11(1):84-90.
10. Nakamura M, Tachieda R, Niinuma H, Ohira A, Endoh S, Hiramori K, et al. Circulating biochemical marker levels of collagen metabolism are abnormal in patients with abdominal aortic aneurysm. *Angiology.* 2000 May;51(5):385-92.
11. Kucera R, Smid D, Topolcan O, Karlikova M, Fiala O, Slouka D, et al. Searching for New Biomarkers and the Use of Multivariate Analysis in Gastric Cancer Diagnostics. *Anticancer Res.* 2016 Apr;36(4):1967-71.
12. Urbonavicius S, Urbonaviciene G, Honoré B, Henneberg EW, Vorum H, Lindholt JS. Potential circulating biomarkers for abdominal aortic aneurysm expansion and rupture--a systematic review. *Eur J Vasc Endovasc Surg Off J Eur Soc Vasc Surg.* 2008 Sep;36(3):273-280-282.
13. Folsom AR, Yao L, Alonso A, Lutsey PL, Missov E, Lederle FA, et al. Circulating Biomarkers and Abdominal Aortic Aneurysm Incidence: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation.* 2015 Aug 18;132(7):578-85.
14. Dawson J, Cockerill GW, Choke E, Belli A-M, Loftus I, Thompson MM. Aortic aneurysms secrete interleukin-6 into the circulation. *J Vasc Surg.* 2007 Feb;45(2):350-6.
15. Treska V, Topolcan O, Pecen L. Cytokines as plasma markers of abdominal aortic aneurysm. *Clin Chem Lab Med.* 2000 Nov;38(11):1161-4.

MUDR. JAN ZEITHAML

E-MAIL: ZEITHAMLJ@FNPLZEN.CZ

DOC. MUDR. JIŘÍ MOLÁČEK, PH.D.

E-MAIL: MOLACEK@FNPLZEN.CZ

CHIRURGICKÁ KLINIKA, FAKULTNÍ NEMOCNICE PLZEŇ
ALEJ SVOBODY 923/80, 323 00 PLZEŇ

IMUNOCHEMICKÉ ANALYZÁTORY BECKMAN COULTER

Imunochemické analyzátoři Beckman Coulter si za dobu svého působení vydobily svou pevnou pozici na trhu. Již v roce 2017 prošla generační obměnou řada Access 2. Změn byla celá řada.

PŘIPOMÍNÁM JEN některé z nich: kontrola stavového panelu v horní části systému, úprava slotů pro provozní reagentie a identifikace reagentií v přístroji nebo možnost napojení na vzdálenou službu PROservis, a tím zvýšení spolehlivosti systému pomocí poskytování vzdálené diagnostiky. V minulém roce se obměny dočkal rovněž systém DxI800. Zde bylo hlavním požadavkem sladění designu respektující současnou grafickou strategii firmy. Nové DxI800 využívá osvědčené technologie s vnitřními alikvoty, která umožňuje velice rychlé odebrání vzorku pro zpracování ve stroji a uvolnění zkumavky pro další zpracování v laboratoři. Zachována byla také vysoká kapacita (až 50 různých metod na boardu), výkon (400 jednokrokových metod za hodinu), a stejně tak i možnost vkládání reagentií za chodu či snadná a rychlá údržba analyzátoři. První instalace nového DxI800 proběhla již začátkem roku 2019 ve Frýdku-Místku, kde se nejenom těší z nového designu přístroje, ale také ze všech jeho užitečných vlastností.

MIROSLAV JANOŠÍK

E-MAIL: MJANOSIK@BECKMAN.COM





NOVÉ SOUPRAVY ClearLLab 10 color (CE-IVD)

KOMPLEXNÍ ŘEŠENÍ ANALÝZY LYMFOMŮ A LEUKEMIÍ NA PRŮTOKOVÉM CYTOMETRU

Společnost Beckman Coulter uvedla jako první na trh 10barevné CE-IVD vysušené koktejly protilátek určené pro typizaci Lymfomů a Leukemií (L&L) pokrývající lymfoidní i myeloidní linie leukocytů. Zkumavky využívají osvědčenou DURA Innovation technologii vysušeného koktejlu protilátek známou ze souprav DuraClone, která nevyžaduje chlazení. Reagencie tak lze uchovávat při laboratorní teplotě. Soupravy doplňují již zavedenou screeningovou zkumavku ClearLLab LS (CE-IVD).

LABORATOŘ má díky tomu neustálý přehled o skladových zásobách (počet testů, který lze ze zásob generovat) a jistotu, že jsou všechny markery ve správné koncentraci skutečně v panelu přítomny (eliminace opakování analýzy).

REAGENCIE CLEARLLAB jsou v souladu s doporučením 2006 Bethesda International Consensus a kompatibilní s World Health Organization (WHO) 2016 – revision klasifikací myeloidních neoplazem a akutních leukemií. Jsou určeny a validovány pro cytometry Navios a Navios Ex a pro vzorky plné krve, kostní dřeně anebo lymfatických uzlin a antikoagulanty K2EDTA, ACD nebo heparin. Balení obsahuje vždy 25 zkumavek s příslušným koktejlem protilátek.

KROMĚ SAMOTNÝCH připravených panelů je k dispozici celé kontinuum nástrojů pokrývajících nastavení cytometru, přípravu vzorku, jeho analýzu a vyhodnocení.

K DISPOZICI JSOU tak na trhu zcela ojedinělé krevní kontroly na 2 hladinách ClearLLab Control (Normal a Abnormal) s deklarovanými hodnotami všech 27 markerů použitých v daných panelech. ClearLLab Abnormal Control má navíc definované hladiny CD34, CD117 a CD123. Proto lze kontroly s výhodou využít jako interní kontrolu kvality laboratoře pro L&L panely.



Powered By
DURA Innovations
Dry Unitized Reagent Assays



| | Modrý laser | | | | | Červený laser | | | Fialový laser | |
|-----------------------|-------------|--------|-------|-------|-------|---------------|-----------------------|-----------------------|-----------------|------------------|
| | FITC | PE | ECD | PC5.5 | PC7 | APC | APC-A700 ¹ | APC-A750 ² | PB ³ | KrO ⁴ |
| B Cell Tube (B96805) | Kappa | Lambda | CD10 | CD5 | CD200 | CD34 | CD38 | CD20 | CD19 | CD45 |
| T Cell Tube (B96806) | TCRgd | CD4 | CD2 | CD56 | CD5 | CD34 | CD7 | CD8 | CD3 | CD45 |
| M1 Cell Tube (B96807) | CD16 | CD7 | CD10 | CD13 | CD64 | CD34 | CD14 | HLA-DR | CD11b | CD45 |
| M2 Cell Tube (B96808) | CD15 | CD123 | CD117 | CD13 | CD33 | CD34 | CD38 | HLA-DR | CD19 | CD45 |

¹ APC-A700: APC-Alexa Fluor* 700; ² APC-A750: APC-Alexa Fluor* 750; ³ PB: Pacific Blue*; ⁴ KrO: Krome Orange
* Alexa Fluor and Pacific Blue are registered trademarks of Molecular Probes, Inc.



PRO NASTAVENÍ cytometru jsou k dispozici standardizační partikule Flow Set Pro beads (CE-IVD) a pro kompenzace ClearLLab Compensation beads (CE-IVD) a vysušené single stained kompenzační zkumavky (ClearLLab Compensation Kit).

ANALÝZA MŮŽE proběhnout pomocí předpřipravených templátů CE-IVD certifikovaného software Kaluza C, který obsahuje i modul pro vyhodnocování Lewey-Jennings grafů pro monitoring QC control.

KALUZA C

Toto řešení tedy výrazně šetří skladové hospodářství laboratoře (vždy je znám skutečný počet zbývajících testů a skladování probíhá při laboratorní teplotě) a čas potřebný pro zpracování (není nutné pipetovat protilátky), analýzu či vyhodnocení pacientských vzorků. Laboratoři pak zásadně ulehčují standardizaci a validaci metody a prokázání shody s příslušnými regulačními požadavky.

ROMAN VLČEK
E-MAIL: RVLCEK@BECKMAN.COM

| Part Number | Description |
|-------------|---|
| B96805 | ClearLLab 10C B Cell Tube |
| B96806 | ClearLLab 10C T Cell Tube |
| B96807 | ClearLLab 10C M1 Cell Tube |
| B96808 | ClearLLab 10C M2 Cell Tube |
| B74074 | ClearLLab Compensation Kit |
| B99883 | ClearLLab Compensation Beads |
| B90002 | ClearLLab Control Cells Normal |
| B90003 | ClearLLab Control Cells Abnormal |
| C10574 | Kaluza C Analysis Software Perpetual, 1-User (Single) |
| C10575 | Kaluza C Analysis Software 1 Year, 1-User (Single) |
| C10576 | Kaluza C Analysis Software, 10-User (Network) |
| C10577 | Kaluza C Analysis Software, 5-User (Network) |
| C10578 | Kaluza C Analysis Software Educational Perpetual, 1-User (Single) |
| C10579 | Kaluza C Analysis Software Educational 1 Year, 1-User (Single) |
| C10580 | Kaluza C Analysis Software Educational, 10-User (Network) |
| C10581 | Kaluza C Analysis Software Educational, 5-User (Network) |

SOUPRAVA CLEARLLAB LS LYMPHOID SCREEN

slouží ke stanovení populací lymfocytů metodou imunofenotypizace s použitím průtokového cytometru Navios nebo Navios EX s 10 detektory pro fluorescence. Reagencie je určena pro vzorky periferní plné krve a kostní dřeně odebrané do K3EDTA, ACD-A a heparinu (litného anebo sodného) a vzorků lymfatických uzlin.

- Předpřipravená směs 12 monoklonálních protilátek s 10 fluorochromy
- CE IVD pro použití s průtokovým cytometrem Navios nebo Navios EX
- Unifikovaný formát vysušených protilátek stejně jako známá řada reagentů Duraclone
- 25 testů v balení

- Kompatibilní s klasifikací WHO-2008-Revised
- Zkumavky s reagensy jsou uchovávány při teplotě 18 - 30 °C, na suchém místě

Pro lýzu červených krvinek je doporučen lyzační roztok VersaLyse Lysing Solution. VersaLyse je velmi šetrný lyzační roztok, jehož hlavní aktivní složkou je cyklický amin, který je reakcí s karbonát dehydratazou červených krvinek přeměněn na sloučeninu velmi účinně lyzující erytrocyty.

PAVEL KRUŽÍK
E-MAIL: PKRUZIK@BECKMAN.COM

| | Modrý laser | | | | | Červený laser | | | Fialový laser | |
|------------------------------|-------------|------------|------|-------|------|---------------|-----------------------|-----------------------|-----------------|------------------|
| | FITC | PE | ECD | PC5.5 | PC7 | APC | APC-A700 ¹ | APC-A750 ² | PB ³ | KrO ⁴ |
| ClearLLab LS Lymphoid screen | Kappa/CD8 | Lambda/CD4 | CD19 | CD56 | CD10 | CD34 | CD5 | CD20 | CD3 | CD45 |

¹ APC-A700: APC-Alexa Fluor* 700; ² APC-A750: APC-Alexa Fluor* 750; ³ PB: Pacific Blue*; ⁴ KR: Krome Orange
* Alexa Fluor and Pacific Blue are registered trademarks of Molecular Probes, Inc.



PRŮTOKOVÝ CYTOMETR CYTOFLEX V BOTANICE

ZKUŠENOST UŽIVATELE

Následující text je recenzí na přístroj Cytoflex LX, který naší laboratoři zapůjčila firma Beckman Coulter Česká republika s.r.o. k vyzkoušení. V žádném případě se nejedná o vědeckou tezi, ale o popsání mých několikátýdenních osobních zkušeností s tímto přístrojem. Dále prohlašuji, že s výše uvedenou firmou nemám žádný finanční nebo jiný společný zájem.

JEDNALO SE o demonstrační kus, který cestuje po celé Evropě. Technik ho během jednoho odpoledne nainstaloval a druhý den ráno mě aplikační specialista se systémem seznámil. Obsluha přístroje je velmi jednoduchá, takže během jedné, dvou hodin jsem byl schopný pracovat samostatně.

NAŠE LABORATOŘ používá malé cytometry – analyzátoři zejména k měření velikostí rostlinných genomů, které jsou důležitými parametry v botanickém výzkumu. Jako fluorescenční barviva používáme DAPI (pro měření ploidie) a propidium jodid (PI – pro měření velikosti genomu v pg). Zapůjčený přístroj byl vybaven 6 lasery (488, 638, 405, 561, 375 a 808 nm). Díky tomu jsem měl pro každý fluorochrom na výběr 2 lasery pro srovnání. Konkrétně 375 nm (60 mW) a 405 nm (80 mW) pro excitaci DAPI a 488 nm (50 mW) a 561 nm (30 mW) pro excitaci PI. Konkrétní přístroj byl pro detekci signálů vybaven 21 lavinovými fotodiodami (APD) s různými optickými filtry. Pro mé účely jsem vybral tyto detekční kanály: 450/45 BP pro DAPI a 610/20 BP pro PI. Vzorky jsem zpracovával obvyklým způsobem. Podrobné informace o protokolech včetně reagencií jsou k dispozici

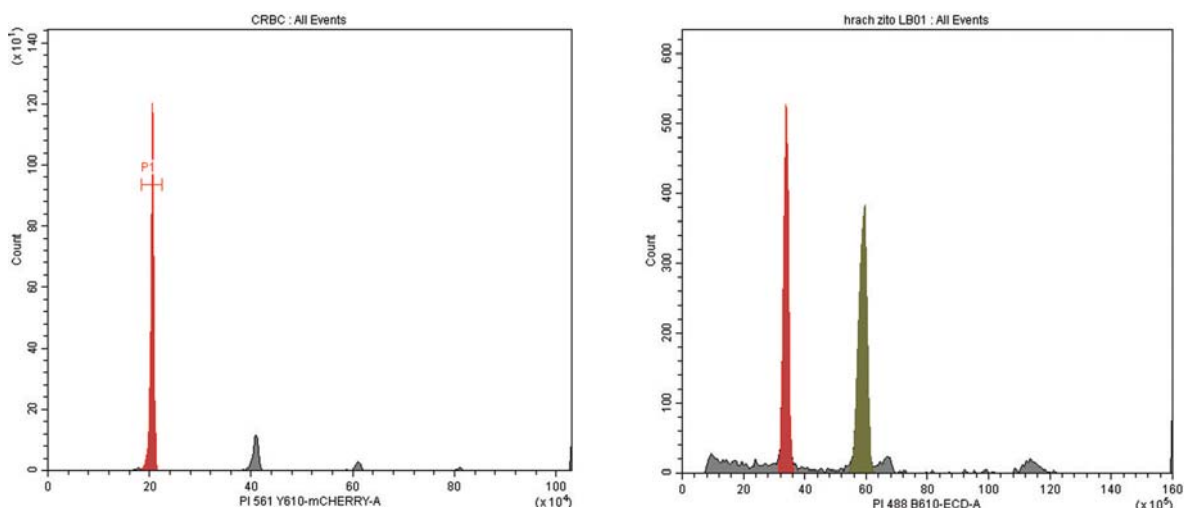


CytoFlex LX

na webových stránkách našeho pracoviště <http://olomouc.ueb.cas.cz/book/dna-flow-cytometry>. Stručně, malé množství rostlinné tkáně (listu) jsem žiletkou rozsekal v izolačním pufru LB01. Homogenát jsem přefiltroval přes nylonový filtr s velikostí pórů 50 µm a následně obarvil příslušnými barvivy. V případě PI jsem ještě přidal RNázu. Jako kontrolu kvality nastavení cytometru jsem použil jednak kalibrační částice dodané přímo firmou, tak jádra kuřečích erytrocytů (CRBC), která používáme v naší laboratoři jako kalibrační a QC částice. Při měření ploidie pomocí DAPI dosahovaly koeficienty variability (CV) hodnot mezi 1,0% až cca 1,5% při

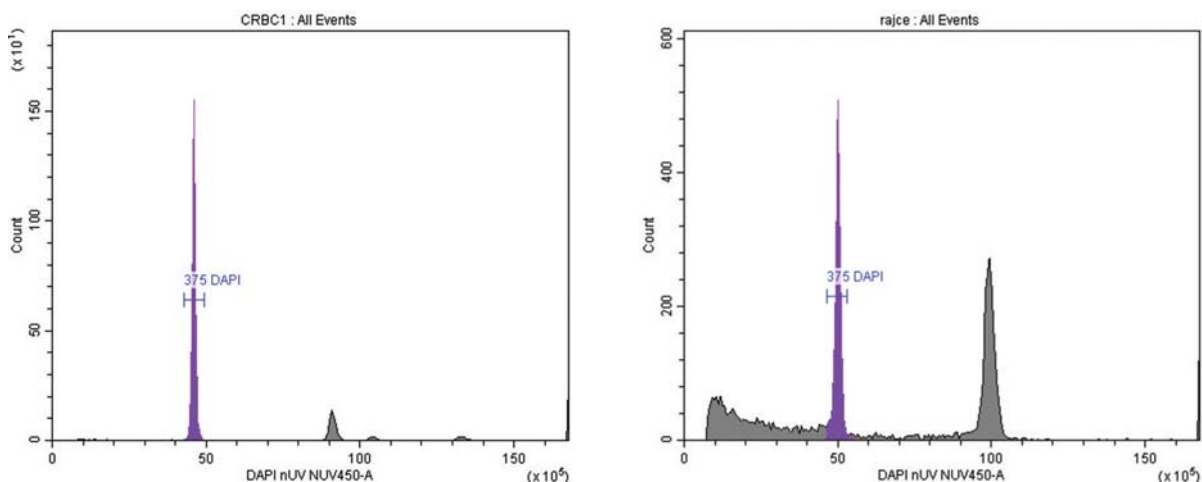
OBRÁZEK 1: HISTOGRAMY RELATIVNÍHO OBSAHU DNA.

Jádra byla izolována v pufru LB01, barvena pomocí PI (konečná koncentrace 50 µg/ml) s přídavkem RNázy (konečná koncentrace 50 µg/ml). Vlevo: vzorek jader kuřečích erytrocytů. K excitaci byl použit žlutozelený laser (561 nm). Koeficient variability G1 píku (červeně) dosahoval 1,93%. Vpravo: vzorek jader hrachu (červený pík) a žito (zelený pík). K excitaci byl použit modrý laser (488 nm). Koeficienty variability byly 2,20 (hrách) a 2,18 (žito).



OBRÁZEK 2: HISTOGRAMY RELATIVNÍHO OBSAHU DNA.

Jádra byla izolována v pufru LB01, barvena pomocí DAPI (konečná koncentrace 2 µg/ml). K excitaci byl použit NUV laser (375 nm). Vlevo: vzorek jader kuřecích erytrocytů. Koeficient variability G1 píku (fialově) dosahoval hodnoty 0,93%. Vpravo: vzorek jader rajčete. Koeficient variability G1 píku (fialově) byl 1,57%.



použití 375nm laseru, zatímco při použití 405nm laseru byly mnohem horší (nad 2 %). Při měření velikosti genomů pomocí PI bylo rozpětí CV u měřených vzorků mezi hodnotami 2 – 3% pro oba použité lasery (488 nm a 561 nm).

Z VÝSLEDKŮ vyplývá, že pro analýzu ploidie rostlin pomocí DAPI je vhodný přístroj s laserem 375 nm, zatímco pro měření absolutního obsahu DNA pomocí PI jsou vhodné oba použité lasery (488 nm i 561 nm), protože oba měly srovnatelné výsledky. Zejména předvedený výkon žltozeleného laseru je zajímavý, protože rozšiřuje portfolio laserů použitelných v botanickém výzkumu, kde se pro excitaci PI tradičně používá zelené spektrum (kolem 530 nm).

ZÁVĚREM BYCH chtěl dodat, že jsem byl přístrojem velmi mile překvapen. Vzhledem k tomu, že se jednalo o předváděcí přístroj, který byl standardně nastaven, lze předpokládat, že by jeho nastavení šlo i dále uživatelsky optimalizovat. Z těchto důvodů proto každému potenciálnímu zájemci o koupi nového analyzátoru pro botanické účely doporučuji, aby si tento přístroj nechal předvést a vyzkoušel jej se svými vzorky.

MGR. JAN VRÁNA, PH.D.

**CENTRUM STRUKTURNÍ A FUNKČNÍ GENOMIKY ROSTLIN
ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ BOTANIKY, VV.I.**

ŠLECHTITELŮ 31, 783 71 OLMOUC

E-MAIL: VRANA@UEB.CAS.CZ

NOVÁ GENERACE SOUPRAVY PRO IZOLACI DNA Z KRVE: GENFIND V3

BECKMAN COULTER Life Sciences přichází na trh s novou generací kytu GenFind V3, která je vylepšenou a optimalizovanou verzí kytu pro izolaci genomové DNA (gDNA) z čerstvé i zmrazené krve obsahující antikoagulanty, jako je EDTA, citrát nebo heparin. Kity využívají patentovanou technologii SPRI (Solid Phase Reversible Immobilization) založenou na reverzibilní vazbě nukleových kyselin na paramagnetické kuličky.

JE MOŽNÉ JE ZPRACOVÁVAT ve formátech 2ml zkumavek nebo v 96jamkových destičkách manuálně nebo pomocí široké škály pipetovacích automatů Biomek. Kvalita takto získané gDNA je v porovnání s jinými dodavateli konzistentní jak z čerstvých, tak zmražených vzorků krve.

Kit je k dispozici v následujících baleních

| Kat. číslo | Název | Počet preparací |
|------------|------------|-----------------|
| C34880 | GenFind V3 | 50 |
| C34881 | GenFind V3 | 384 |

- Optimální a konzistentní čistota a kvalita izolátů gDNA
- Žádný přenos inhibitorů z různých antikoagulantů, které mohou být kritické při speciálních PCR a následných analýzách
- Zpracuje až 400 µl čerstvé nebo zmrazené krve

Více informací na vyžádání nebo v Data Sheet: Genomic DNA isolation from fresh or frozen whole blood and serum / GenFind V3 (AAG-4676DS12.18).

EVA KRÁLOVÁ

E-MAIL: EKRALOVA@BECKMAN.COM



AKVIZICE SPOLEČNOSTI LABCYTE FIRMOU BECKMAN COULTER LIFE SCIENCES

Společnost Beckman Coulter Life Sciences 30. ledna 2019 oznámila akvizici soukromé společnosti Labcyte, se sídlem v San Jose v Kalifornii.

LABCYTE JE ZNÁMÁ zejména svojí technologií Echo®. Jedná se o technologii akustického bezkontaktního přenosu tekutin, která využívá zvukových vln k přenosu drobného množství kapaliny z výchozí do cílové jamky bez použití špiček. Tato technologie umožňuje s nesrovnatelnou rychlostí a přesností efektivnější laboratorní pracovní postupy v širokém spektru vědeckého výzkumu, včetně genomiky, proteomiky, diagnostiky a personalizované medicíny a vývoje léků.

FIRMA LABCYTE má jen v USA zaregistrováno 63 patentů a její laboratorní přístroje se používají po celém světě ve farmaceutickém a biotechnologickém průmyslu, stejně jako v nemocnicích, servisních laboratořích, smluvních výzkumných organizacích a akademických institucích.

„**UNIKÁTNÍ PRODUKTOVÉ** portfolio společnosti Labcyte doplňuje naši stávající nabídku přístrojů pro přenos tekutin a automatizaci laboratoří. Poskytuje nové možnosti rozvíjet, zlepšovat a šetřit čas v laboratorním workflow našim zákazníkům,“ řekl Jonathan Pratt, prezident společnosti Beckman Coulter Life Sciences.

„**LABCYTE** a Beckman Coulter Life Sciences sdílí společnou vizi o tom, jak pokročit v oblasti vědy, a umožnit tak rychlejší výzkum a vývoj v medicíně. Spolu vytvoříme výkonný tým a neocenitelný zdroj pro současné i budoucí zákazníky po celém světě.“

„**BYLA TO VZRUŠUJÍCÍ CESTA** - od rozvíjení technologie akustického dávkování tekutin



ECHO® Liquid Handler.

v garáži, budování globální obchodní značky, až po spojení sil s lídrem v oblasti life science technologií,“ řekl Richard Ellson, ředitel CTO a zakladatel společnosti Labcyte. „Akustický transport tekutin se rychle stává páteří pro vysokovýkonné automatizované pracovní postupy. Těšíme se na urychlení růstu a inovace v rámci týmu Beckman Coulter Life Sciences.“

EVA KRÁLOVÁ

E-MAIL: EKRALOVA@BECKMAN.COM

NOVÁ MONOKLONÁLNÍ PROTILÁTKA PRO PRŮTOKOVOU CYTOMETRII: ANTI-IL-2-FITC

Nový výrobek doplňuje nabídku pro stanovení intracelulárních cytokinů.

| | Fluorochrom | Obj. číslo | Izotyp | Objem | Klon | Status |
|-----------|--------------|------------|------------------|----------|------------|---------|
| IL-2 | FITC | B90436 | IgG1 kappa mouse | 1ml | IL2.39.1 | ASR/GMP |
| IL-2 | PE | IM2718U | IgG2a mouse | 2 ml | N7.48A | ASR/GMP |
| IL-4 | PE | IM2719U | IgG1 mouse | 2 ml | 4D9 | ASR/GMP |
| IL-4 | PC7 | B90441 | IgG1 rat | 0,5ml | MP4-25D2 | ASR/GMP |
| IL-17 A | Pacific Blue | B76266 | IgG1 mouse | 50 testů | BL168 | RUO/GMP |
| IL-17 A | AF700 | B90428 | IgG1 mouse | 50 testů | BL168 | RUO/GMP |
| IFN gamma | Pacific Blue | B46034 | IgG1 mouse | 0,5ml | 45.15 | ASR/GMP |
| IFN gamma | FITC | IM2716U | IgG1 mouse | 2 ml | 45.15 | ASR/GMP |
| IFN gamma | PE | IM2717U | IgG1 mouse | 2 ml | 45.15 | ASR/GMP |
| TNF alpha | PE | IM3279U | IgG1 Mouse | 2 ml | IPM2 (188) | ASR/GMP |
| TNF alpha | AF700 | B76295 | IgG1 Mouse | 0,5ml | IPM2 (188) | ASR/GMP |

POHLED NA HEMATOLOGICKÉ ANALYZÁTORY

SYSMEX ŘADY XN 10, XN 20 A BECKMAN COULTER DXH 800 V PRAXI

ÚVOD

V loňském roce proběhla na našem Oddělení klinické hematologie Ústavu laboratorní diagnostiky ve FN Ostrava studie s názvem „Porovnání hematologického analyzátoru Beckman Coulter DxH 800 a Sysmex XN 9000“. Tato studie byla hlavním tématem bakalářské práce studentky Lékařské fakulty Ostravské univerzity studující bakalářský obor zdravotní laborant.

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA přináší pro klinickou medicínu stěžejní informace. Díky laboratorním výsledkům je lékař schopen blíže klasifikovat případnou patologii a vytvořit optimální diagnostický a léčebný plán. V současné době je na trhu k dispozici velký výběr různých typů hematologických analyzátorů. Pro běžnou klinickou praxi je důležité, aby byla zachována obecná mezipřístrojová porovnatelnost výsledků, tedy porovnatelnost výsledků napříč laboratořemi. Samozřejmou součástí moderních hematologických analyzátorů je automatické stanovení diferenciálního počtu leukocytů, které z velké části nahradilo manuální mikroskopické stanovení. Toto ale stále zůstává nezbytné v případě komplikovaných patologických vzorků a je i nadále považováno za referenční metodu.

NA OBRÁZKU Č. 1 jsou zobrazeny analyzátoři firmy Sysmex řady XN, tj. dva analyzátoři XN 10 a jeden XN 20 zapojené do automatizované linky XN 9000. Tyto přístroje byly v rámci studie vedeny jako referenční vzhledem k tomu, že jsou používány v běžném provozu na OKH ÚLD ve FNO. Kromě běžného stanovení krevního obrazu a diferenciálního počtu leukocytů má oddělení k dispozici i tzv. expertní kanály 1x PLT-F, 2x RET, 1x WPC a 1x BF. Analyzátoři Sysmex řady XN pracují na principech spektrofotometrie, fluorescenční průtokové cytometrie a hydrodynamické fokusace či jejich kombinací. Na obrázku č. 2 je zobrazen porovnávaný analyzátor firmy Beckman Coulter DxH 800. Ten využívá pro měření spektrofotometrii, Coulterův impedanční princip, VCS technologii a hydrodynamickou fokusaci.

METODIKA

Celkem bylo proměřeno na obou analyzátořích 500 patientských vzorků od fyziologických až po velmi patologické. Byly sledovány parametry KO (n = 500), DIFF (n = 130) a RET (n = 220).

OBR. 1: ANALYZÁTORY ŘADY XN (2x XN 10, 1x XN 20)



OBR. 2: ANALYZÁTOR DXH 800



VZORKY byly odebírány do zkumavek značky Sartstedt s K3EDTA o objemu 2,6mL a také dětských kepů. Grafické a statistické vyhodnocení bylo prováděno s využitím statistického softwaru MedCalc verze 18.2.1 (Passing-Bablok, Bland-Altman). Statistické vyhodnocení poznamenala skutečnost, že program MedCalc neumí zpracovat hodnoty rovné nule a tyto musely být ze souboru vyloučeny. Také byly vyloučeny extrémně odlehle hodnoty, popř.

TABULKA 1: POROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ KREVNÍHO OBRAZU A RETIKULOCYTŮ

| KO + RET | n | MIN MAX | XN 10, XN 20 průměr | DxH 800 průměr | D _i < D _{max} (%) | D _{max} dle SEKK (%) |
|---------------------------|-----|---------------|---------------------|----------------|---------------------------------------|-------------------------------|
| WBC (10 ⁹ /L) | 458 | 0,1 – 327 | 13,9 | 13,5 | 99,56 | 15 |
| RBC (10 ¹² /L) | 466 | 1,9 – 7,4 | 4,00 | 3,90 | 99,79 | 7 |
| HGB (g/L) | 477 | 59 – 229 | 122 | 121 | 99,58 | 6 |
| HCT (-) | 466 | 0,204 – 0,701 | 0,400 | 0,400 | 99,57 | 10 |
| MCV (fL) | 476 | 63 – 144 | 91 | 94 | 99,79 | 10 |
| RDW (%) | 438 | 11,2 – 23,5 | 15,8 | 16,4 | 95,21 | 10 |
| PLT (10 ⁹ /L) | 433 | 1 – 886 | 211 | 186 | 99,77 | 20 |
| MPV (fL) | 394 | 7,3 – 13,9 | 10,8 | 9,7 | 96,95 | 18 |
| RET (%) | 217 | 0,1 – 8,2 | 2,3 | 2,0 | 100,00 | 50 |

TABULKA 2: POROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ DIFERENCIÁLNÍHO POČTU LEUKOCYTŮ

| DIFF | n | MIN MAX | XN 10, XN 20 průměr | DxH 800 průměr | Mikroskop průměr | D _i < D _{max} Mikroskop vs. XN (%) | D _i < D _{max} Mikroskop vs. DxH 800 (%) | D _{max} dle SEKK (%) |
|--------|-----|------------|---------------------|----------------|------------------|--|---|-------------------------------|
| NE (%) | 109 | 1,6 – 96,2 | 52,2 | 51,7 | 53,8 | 98,2 | 99,2 | 25 |
| LY (%) | 130 | 5,6 – 97,2 | 45,6 | 44,8 | 44,7 | 98,4 | 99,2 | 25 |
| MO (%) | 71 | 0,9 – 31,4 | 10,1 | 9,4 | 9,4 | 100 | 100 | 50 |
| EO (%) | 67 | 0,6 – 17,9 | 3,6 | 3,7 | 4,0 | 100 | 100 | 50 |
| BA (%) | 29 | 0,6 – 3,0 | 1,1 | 1,2 | 1,3 | 100 | 100 | 100 |

TABULKA 3: POROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ NORMOBLASTŮ

| NRBC | n | MIN MAX | XN 10, XN 20 průměr | DxH 800 průměr | Mikroskop průměr | D _i < D _{max} Mikroskop vs. XN (%) | D _i < D _{max} Mikroskop vs. DxH 800 (%) | D _{max} dle SEKK (%) |
|--------------|----|------------|---------------------|----------------|------------------|--|---|-------------------------------|
| NRBC/100 WBC | 27 | 0,1 – 29,5 | 3,8 | 4,1 | 5,2 | - | - | není definován |

body, u kterých jeden či druhý analyzátor nevydal výsledek. Počty dat v souborech se proto liší. Toto bylo doplněno o deskriptivní statistiku. Nakonec byly provedeny výpočty procentuálních odchylek měření D (%), které se porovnály s povolenými odchylkami měření D_{max} (%) uváděné firmou SEKK. U vybraných parametrů (DIFF, NRBC) byly výsledky doplněny o mikroskopické vyhodnocení či počítání v Bürkerově komůrce (PLT).

VÝSLEDKY

Analyzátory byly porovnávány z různých úhlů pohledu. Nejprve jsme shrnuli technické možnosti obou analyzátorů a následně porovnali výsledky patientských vzorků.

SYSMEX ŘADY XN zapojený do linky promíchává individuálně zkumavky umístěné do stojánu (max. 10 zkumavek), aspiruje 88 µL vzorku a dalších 88 µL pro RE-RUN v expertním kanále, požaduje min. 1 000 µL mrtvého objemu, pro KO + DIFF + RET používá kontrolní materiály XN CHECK (L1, L2, L3) o objemu 3,0mL, pro měření KO + DIFF + RET používá 12 reagensů, v rámci

hodnocení pozadí sleduje 10 parametrů, umožňuje měřit 5 parametrů tzv. body fluid tekutiny ve speciálním módu, nabízí 43 klinicky schválených a až 70 výzkumných parametrů.

NAPROTI TOMU analyzátor DxH 800 promíchává celý stojan (max. 5 zkumavek) se všemi vzorky najednou, aspiruje 165 µL vzorku včetně RE-RUN, požaduje min. 500 µL mrtvého objemu, pro KO + DIFF používá kontrolní materiály 6C Cell (L, N, H) o objemu 3,5mL a pro vyšetření retikulocytů používá zvláštní sadu kontrol Retic Cell (L, N, H), pro měření KO + DIFF + RET používá pouze 5 reagensů, v rámci hodnocení pozadí sleduje 8 parametrů, umožňuje měřit 2 parametry v rámci tzv. body fluid ve speciálním módu, nabízí 30 klinicky schválených a 18 výzkumných parametrů.

PRVNÍ POROVNÁVANOU skupinou bylo 8 parametrů krevního obrazu a počet retikulocytů. Výsledky ukázaly velmi dobrou shodu mezi XN 10, XN 20 a DxH 800, jak je znázorněno v tabulce č. 1. U porovnávaných dvojic bylo 95,21 – 99,79%

vypočítaných odchylek měření pro KO menších, než jsou deklarované maximální přípustné procentuální odchylky měření dle Dmax uváděné firmou SEKK. U retikulocytů byla u všech porovnávaných dvojic odchylka měření menší než je Dmax.

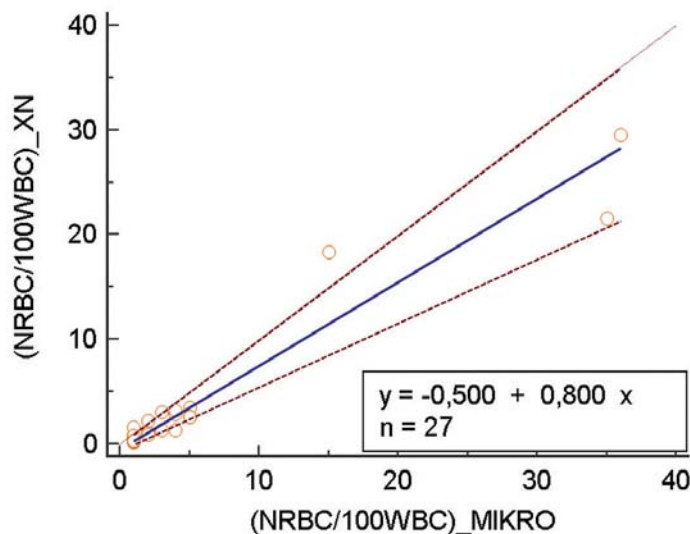
DRUHOU POROVNÁVANOU skupinou výsledků bylo 5 parametrů diferenciálního počtu leukocytů. Výsledky všech parametrů taktéž ukázaly, že bylo dosaženo velmi dobré shody mezi výsledky XN 10, XN 20 a mikroskopickým vyhodnocením, resp. DxH 800 a mikroskopickým vyhodnocením. Výsledky jsou znázorněny v tabulce č. 2. U porovnávaných dvojic bylo 98,2 – 100 % vypočítaných odchylek měření pro DIFF menších, než jsou deklarované maximální přípustné procentuální odchylky měření dle Dmax uváděné firmou SEKK.

TŘETÍ POROVNÁVANOU skupinou výsledků byly vzorky obsahující normoblasty. Výsledky opět ukázaly, že bylo dosaženo velmi dobré shody mezi výsledky z XN 10, XN 20 a mikroskopickým vyhodnocením, resp. DxH 800 a mikroskopickým vyhodnocením. Výsledky jsou znázorněny v tabulce č. 3 a Passing-Bablok regresní grafy na obrázcích 3 a 4. Odchylka měření nebyla stanovena, protože firma SEKK neuvádí pro NRBC referenční Dmax.

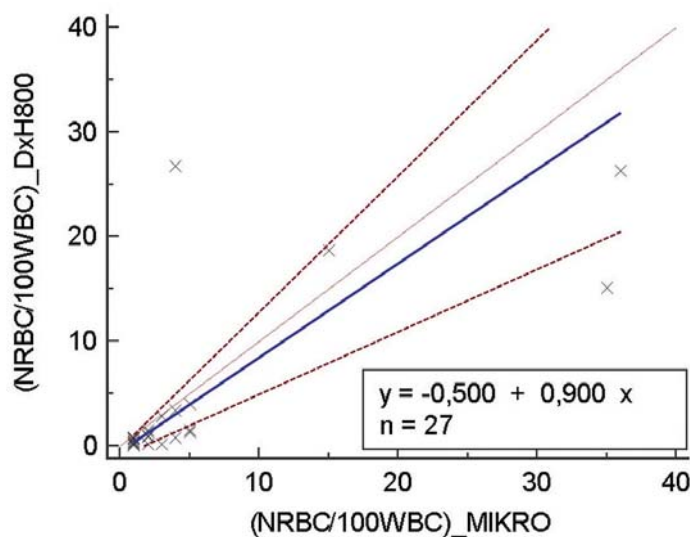
ČTVRTOU POROVNÁVANOU skupinou výsledků byly leukopenické vzorky. Stejně jako v předchozích porovnáních bylo dosaženo velmi dobré shody mezi výsledky měřené v expertním kanále WPC analyzátoru XN 20 a DxH 800, jak je znázorněno v tabulce č. 4. Passing Bablok regresní graf je uveden na obrázku č. 5. U porovnávaných dvojic bylo 86,96 % vypočítaných odchylek měření menších, než je deklarovaná maximální přípustná procentuální odchylka měření dle Dmax.

POSLEDNÍ POROVNÁVANOU skupinou byly vzorky s velmi nízkým počtem trombocytů. Výsledky ukázaly, že bylo dosaženo velmi dobré shody mezi výsledky měřené v expertním kanále PLT-F analyzátoru XN 20 a hodnotou získanou z Bürkerovy komůrky, resp. měřené na DxH 800 a porovnáním s Bürkerovou komůrkou, jak je znázorněno v tabulce č. 5. Passing-Bablok regresní grafy jsou uvedeny na obrázcích č. 6 a 7. U porovnávaných dvojic bylo u XN 20 68,18 %, resp. u DxH 800 77,27 % vypočítaných odchylek měření menších, než je deklarovaná maximální přípustná procentuální odchylka měření dle Dmax. Dále bylo zjištěno, že z celkového počtu 22 vzorků s velmi nízkým počtem trombocytů nevydal Sysmex XN 20 u 10 vzorků hodnoty MPV, tj. u 45,5 %. Důvodem je abnormální

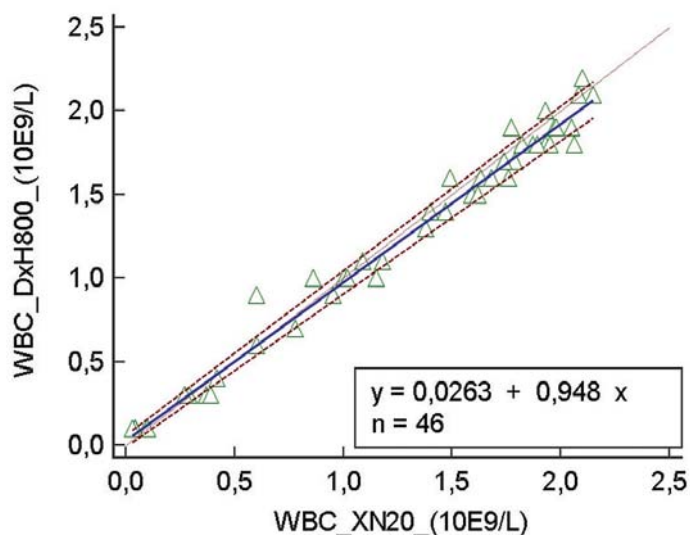
OBR. 3: REGRESNÍ GRAF PRO NRBC
(Mikroskop vs. XN 10, XN 20)



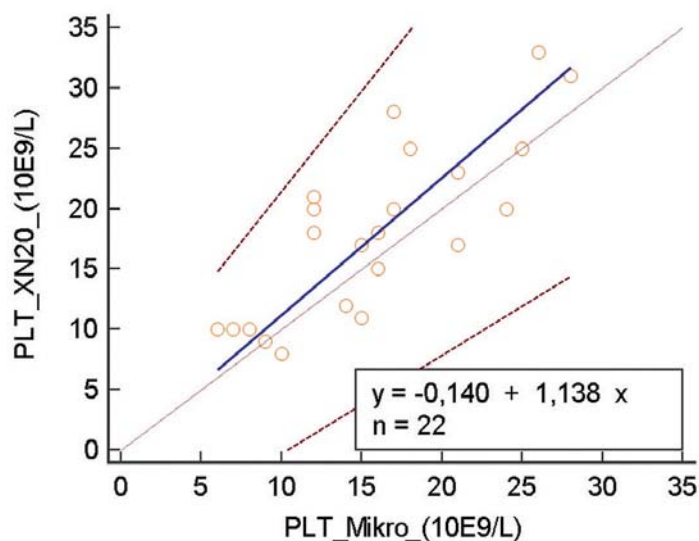
OBR. 4: REGRESNÍ GRAF PRO NRBC
(Mikroskop vs. DxH 800)



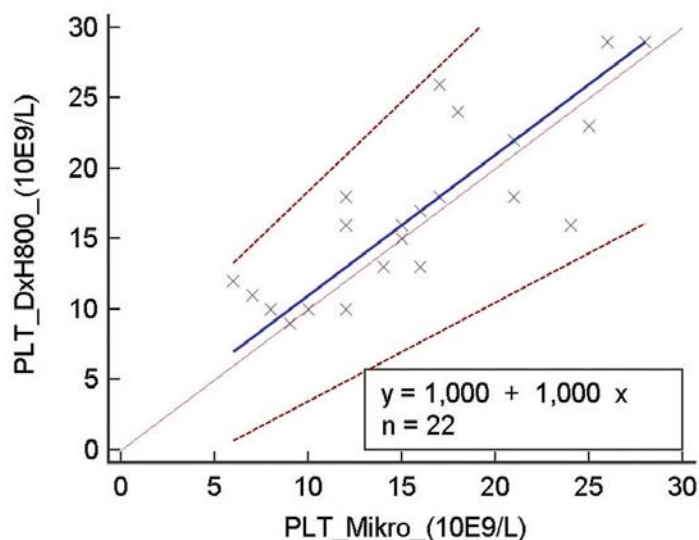
OBR. 5: REGRESNÍ GRAF PRO LEUKOPENICKÉ VZORKY



OBR. 6: REGRESNÍ GRAF PRO TROMBOCYTOPENICKÉ VZORKY
(Bürkerova komůrka vs. PLT-F XN 20)



OBR. 7: REGRESNÍ GRAF PRO TROMBOCYTOPENICKÉ VZORKY
(Bürkerova komůrka vs. DxH 800)



distribuce PLT s ohledem na nízký počet PLT a heterogenitu jejich velikosti. DxH 800 vydává hodnoty MPV i u těchto nízkých počtu PLT, protože má speciální vyhodnocovací algoritmus pro tyto typy vzorků.

ZÁVĚR

I přes rozdílné principy metod stanovení a specifické provozní možnosti analyzátorů Sysmex XN 10, XN 20 a Beckman Coulter DxH 800 byla zjištěna velmi dobrá mezipřístrojová porovnatelnost výsledků. Závěry statistického a grafického vyhodnocení svědčí pro vysokou korelaci mezi výsledky KO, DIFF, RET, a to i v oblastech velmi patologických hodnot. Naše

výsledky jsou ve shodě s dostupnými odbornými články, např. „Comparison of performance and abnormal cell flagging of two automated hematology analyzers: Sysmex XN 3000 and Beckman Coulter DxH 800“ (Genc, Int J Lab Hem. 2017;39:633-640.).

LITERATURA

1. LISOŇKOVÁ, M. Porovnání hematologického analyzátoru Beckman Coulter DxH 800 a Sysmex XN 9000, bakalářská práce, Ostravská univerzita, 2018.
2. WALTERS, C. The Complete Blood Cell Count (CBC) CBC - Part 2: WBC Differential Count and Morphology. LSU Health New Orleans [online]. New Orleans: Louisiana State University Health Science Center [cit. 2017-12-10]. Dostupné z: <http://www.medschool.lsu-hsc.edu/pathology/docs/CBC%20Part%202%20-%20WBC%20Differential%20&%20Morphology.pdf>
3. BAIN, Barbara J. Dacie and Lewis practical haematology. 11th ed. Philadelphia: Elsevier - Churchill Livingstone, 2012. ISBN 9780702034084.
4. Uživatelská příručka: Hematologický analyzátor DxH 800, Beckman Coulter, 2014.
5. Uživatelská příručka: Hematologický analyzátor XN 9000, Sysmex, 2016.
6. BOURKOVÁ, L., M. MATÝŠKOVÁ a J. KRATOCHVÍLA Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP Vnitřní kontrola kvality měření krevních obrazů na hematologických analyzátoch [online]. Praha: ČHS ČLS JEP, 2016, 2016 [cit. 2017-12-17]. Dostupné z: http://www.hematology.cz/doporu-ceni/laboratorni_sekce/files/k_cinnostem/Doporu-ceni_LS_CHS_CLS_JEP-VKK_KO_v05.pdf
7. SEKK, Dmax - přijatelné rozdíly v procentech: Přehled přijatelných rozdíků v procentech pro kvantitativní zkoušky EHK. Pardubice: SEKK, 2018.
8. UniCel® DxH 800. IN VITRO Diagnostika [online]. Praha, 2010, 2010, (16) [cit. 2018-04-11]. Dostupné z: <http://www.beckman.cz/Media/Default/IVD/IVD%202010-16.pdf>.
9. GENC, S., E. DERVISOGLU, S. ERDEM, O. ARSLAN, M. AKTAN a B. OMER. Comparison of performance and abnormal cell flagging of two automated hematology analyzers: Sysmex XN 3000 and Beckman Coulter DxH 800. International Journal of Laboratory Hematology [online]. 2017, 39(6), 633-640 [cit. 2017-11-29]. DOI: 10.1111/ijlh.12717. ISSN 17515521. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijlh.12717/full>

ING. MARTIN PULCER, Ph.D., MBA
ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE,
ÚSTAV LABORATORNÍ DIAGNOSTIKY,
FAKULTNÍ NEMOCNICE OSTRAVA
17. LISTOPADU 1790, 708 52 OSTRAVA-PORUBA
A
KATEDRA BIOMEDICÍNSKÝCH OBORŮ
LÉKAŘSKÁ FAKULTA, OSTRAVSKÁ UNIVERZITA
E-MAIL: MARTIN.PULCER@FNO.CZ

MONIKA LISOŇKOVÁ
TOHO ČASU STUDENTKA 3. ROČNÍKU
OBOR ZDRAVOTNÍ LABORANT
LÉKAŘSKÁ FAKULTA, OSTRAVSKÁ UNIVERZITA

COLOURS OF SEPSIS

29. 1. – 1. ÚNORA 2019, OSTRAVA

Letos v lednu se v Ostravě uskutečnil již 21. ročník kurzu Colours of Sepsis. Jedná se o jedinečnou akci svého druhu s postgraduálním charakterem. Je určena především lékařům a sestřám, kteří se zabývají intenzivní péčí.

ORGANIZÁTOREM akce je společnost SANOPHARM CZ v těsné spolupráci s Klinikou anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny a Oddělením pediatrické intenzivní a resuscitační péče Kliniky dětského lékařství Fakultní nemocnice v Ostravě. Program akce je připravován v úzké spolupráci s předními odborníky ČLS JEP, SLS a Výukovým pracovištěm Intenzivní medicíny IPVZ v Ostravě. Předsedou organizačního výboru je MUDr. Roman Kula, CSc. Od roku 2004 se akce koná pod záštitou Fakultní nemocnice v Ostravě, Česko-Slovenského fóra pro sepsi a od roku 2005 také pod záštitou odborných lékařských společností ČLS JEP, SLS a dalších významných institucí.

21. ROČNÍK Colours of Sepsis obsahoval „Postgraduální přednášky“, „Pro-Con diskuse“, „Setkání s experty“, „Výukové lekce“, „Panelové diskuse“, „Sekce posterů“, „Firemní symposia“, „Workshopy“ a bloky přednášek s názvy „Základy pro intenzivní medicínu“, „Základy nutriční podpory u kriticky nemocných pacientů“ a „Základy klinické mikrobiologie pro intenzivisty“. V rámci akce proběhlo také 16. sympozium „Aktuality v dětské intenzivní péči“ a „6. Postgraduální kurz sester v intenzivní péči“. Více k programu naleznete na stránkách www.sepseostrava.cz. Účastníků tohoto ročníku bylo letos 1 626, což nemá v České republice obdoby.

SOUČÁSTÍ Colours of Sepsis 2019 jsou rovněž online přenosy spojené s profesionálním zpravodajstvím, které naleznete na www.akutne.cz.

VZHLEDEM k diagnostickému portfoliu společnosti Beckman Coulter a našemu novému parametru včasné detekce sepse (ESI) jsme se této akce také účastnili, a to formou prezentačního stánku.



PRO OŽIVENÍ tohoto příspěvku jsem požádala pana doktora Kulu, který působí ve FN Ostrava od roku 1996 a je zakladatelem této konference, o krátký rozhovor. Velmi si toho vážím, protože najít prostor mezi vlastními přednáškami, moderováním odborných bloků a sympózií je opravdu nelehký úkol. Děkuji. Je vidět, že je tato výjimečná akce jeho srdeční záležitostí.

Jedná se již o 21. ročník. Jaké byly začátky?

Na začátku se to jmenovalo Postgraduální kurz sepse a multiorganového selhávání. Malá akce se 17 účastníky. Časem se rozrůstala o zajímavý program,

což přilákalo lidi. Byla to asi ta správná doba, poznatků bylo strašně málo a bylo potřeba dát je do použitelné formy. Později se přidali pediatři. Součástí se stalo symposium Aktuality v dětské intenzivní péči a od roku 2014 také Postgraduální kurz sester v intenzivní péči, který je velmi atraktivní. Jako poslední přibyl letos Den mladých intenzivistů. Jedná se tedy o unikátní kombinaci 4 kongresů.

Proč „Colours of Sepsis“? Má to nějakou spojitost s „Colours of Ostrava“?

Ano, museli jsme oslovit organizátory Colours of Ostrava, zda můžeme název použít. Máme hodně společného – počet dní (my jsme už teď delší), smíšenou účast posluchačů a hudebníků. Paralela je v multioborovém setkání, odborném i kulturním. V tom vidím největší přínos.

Je tato akce výjimečná československou spoluprací?

Ano, slovenských účastníků je jen z lékařské části přes 200, což je adekvátní velikosti a možnostem kolegů. Součástí programu je, na počest mého zesnulého kolegy, Memoriál Petra Gašparce, který byl špičkovým odborníkem a který zasvětil svůj život dětské anestezii a intenzivní medicíně.

Jak často se setkávají intenzivisté, lékaři, sestry, účastníci tohoto kongresu se závažnou situací?

Velmi často, prakticky každodenně. **Nejčastější příčinou úmrtí po úrazech je právě sepse.** Ty v uvozovkách hodně propagované nemoci to nejsou. Na sepsi umírá v součtu více lidí než na onkologická onemocnění. Už nezapíjí infarkt. Proto se bije na poplach. Touto akcí jsme předběhli data o závažnosti situace.

Má tato akce v České republice obdoby? Můžete jmenovat nějaké alternativy jinde?

Vzhledem k odborné náplni, velikosti a počtu účastníků obdoby nemá. Nejbližší akcí je maďarská SepseEast, kterou organizuje každé dva roky prof. Molnár. Paralelou, vzorem, je pak bruselské symposium.

Je těžké sestavit program, najít vhodné řečníky?

Ne. Zájem je větší, než jsme schopni poskytnout prostor. Jedná se o prestižní záležitost. Každý blok řeší ucelenou problematiku, monotematicky, což je výhoda. Posluchač si odnáší největší novinky z úst předních řečníků oboru, což je obrovská výhoda.

Chybí Vám v tomto multioborovém setkání nějaká odbornost?

(Po chvilce přemýšlení) Snad patologie chybí.



Pacient má multiorgánové selhání a je obtížné pít-ovou něco zjistit. Obvykle se nic nenajde. Patologa by mělo zajímat, proč tam nejde nic najít, jestliže organismus selhává. Otázkou je, zda to, co probíhá, není nějaká forma adaptace. Strašně bych uvítal patologický blok ve stylu „pítevní nálezy u zemřelých“. Bez píty se medicína nedá dělat. Potřebujeme to rozklíčovat. Souvisí to samozřejmě s finančními možnostmi oddělení, vytížeností a ochotou patologů spolupracovat.

Dost často se u řečníků skloňuje slovo „pokora“. V jakém smyslu?

Pokora by měla být vlastní každému lékaři. Obecně víme, že pacient má mít takové a makové hodnoty čehokoliv. Máme při léčbě zoufalou tendenci veškeré odchylky normalizovat, aniž bychom si řekli: „Ten organismus se nechce zabít, dělá vše na své přežití!“ Rozhodnout se, zda se jedná o výraznou patologii, kterou je potřeba srovnat, nebo s pokorou uvažovat o tom, jestli to není adaptace, abych vůbec pochopil, co dělám, Je to onemocnění, které je těžké uchopit, pochopit. U infarktu je to jiné. Tady nemáme takovou intervenci.

Jak často se v ostravském region setkáváte s těžkými případy sepse?

Denně. Stále mne něco překvapuje. Jeden náš profesor mi říkal: „Zapamatuj si, že **ne všechno, co je normální, je pro kriticky nemocného optimální.**“ A to je důležité si uvědomit.

Na jaké úrovni je u nás intenzivní péče ve srovnání s EU a jak mezi sebou jednotlivá pracoviště spolupracují?

Péče je u nás na srovnatelné úrovni jako v okolní Evropě. Napříč republikou spolu my intenzivisté velice úzce spolupracujeme. Díky této akci jsme se naučili mluvit stejnou řečí. Různé názory se sjednotily. Teď si mezi sebou v nemocnicích rozumíme. Když se řekne sepsa, těžká sepsa, vím, do čeho jdu.

Lze hovořit o sjednocení „protokolu léčby“ na jednotkách intenzivní péče?

Důležité je pochopení toho, co dělám. Nikdo nemá rád protokoly. Medicína je spíše umění. Každý mladý lékař začíná nějakým tahákem v kapsi, aby na nic nezapomněl. Snažím se hlavně o to, aby studenti pochopili podstatu problému, věděli, co dělají, a uměli posoudit efekt své léčby. Jestli si k tomu najdou nějaké protokoly, aplikace, co jim to urychlí, tak proč ne.

Jaké jsou pro Vás klíčové biomarkery v léčbě sepse? Mnoho přednášek bylo na téma „prokalcitonin ANO x NE“

Biomarkerů je strašně hodně. Každý má svůj význam. Když vyšetřujete jeden biomarker a jiný nemáte, musíte se spolehnout jen na ten jeden. Když máte možnost širší volby, můžete dělat různé kombinace. Různé nálezy vás pak překvapí. Musíte na to hledat vysvětlení, což je dobře, protože poznání se tím hýbe pomalu vpřed. Používají se rutinně, v úzké spolupráci s laboratorii. Jsou dnes standardní součástí léčby, zejména pak v hodnocení odpovědi na ni. Nicméně efekt léčby se dá poznat i klinicky. Biomarkery jsou však o nějakou tu hodinu dříve, a já tak můžu jít klidně spát, protože podle dynamiky biomarkerů odhadnu stav pacienta v nejbližších hodinách.

Limituje Vás něco v profesionální práci?

Financování výzkumu, tady nám chybí peníze. Je potřeba, aby si toho všimli ti, co to financují. Tedy konkrétně vláda ČR. Musí se to dostat do roviny obecného povědomí, aby si to uvědomila celá populace a ta vytvořila nátlak. My jsme svým způsobem předběhli touto akcí dobu a alert závažnosti. Mortalita je stále vysoká. 1 ze 4 pacientů zemře. Z nákladů na léčbu jednoho onkologického pacienta my žijeme na celém oddělení se všemi septickými pacienty aspoň měsíc.

Co můžeme sami udělat pro „prevenci sepse“?

Existuje řada preventivních opatření, která by mohla pomoci – očkování, prosté mytí rukou, ale hlavně přijít do nemocnice včas. Lidé chodí pozdě. Vede je k tomu styl života, tlak na výkon. Přibývá případů, kdy přichází mladí, vyčerpaní lidé v důsledku vyřazení imunitního systému stresem. Důležité je nepodcenit ani obyčejnou chřipku. Insulty se sčítají. Při insuficienci imunitního systému nemusíte běžnou mikrobiologickou zátěž zvládnout. Někdy je to ale loterie. Potkáte extrémně patogenní bakterii, a to je prostě smůla. Tvrdí se, že sepsa v 80% případů přichází z populace.

Nějaký užitečný odkaz k této problematice?

Sepsis Alliance (www.sepsis.org) poskytuje přehled toho, co se děje v oblasti tohoto závažného stavu.

Jaké jsou plány, cíle na příští rok?

(Smích) Neprozradím, nechte se překvapit.

KATEŘINA SIKOROVÁ

E-MAIL: KSIKOROVA@BECKMAN.COM

LABCONGRESS – KONGRES LABORATÓRNEJ DIAGNOTIKY

26. – 27. NOVEMBRA 2018, ŽILINA

V dňoch 26. – 27. 11. 2018 sa v žilinskom hoteli Holliday Inn konal kongres laboratórnej diagnostiky, financovaný z edukačného grantu spoločnosti Beckman Coulter, pod názvom LabCongress.

ODBORNÝM GARANTOM konferencie bol profesor MUDr. Dušan Dobrota, CSc. z Univerzitnej nemocnice Martin. Nosnou témou prvého dňa bola laboratórna medicína v koncepte prediktívnej, preventívnej a personalizovanej medicíny (PPPM).

ÚVODNÉMU BLOKU prednášok dominovala téma diagnostiky sepsy. Viac ako 100 účastníkov konferencie si vypočulo prezentáciu doc. MUDr. Romana Záhorca, CSc. z Onkologického ústavu sv. Alžbety o patofyziológii a diagnostike tohto závažného ochorenia. V diagnostike sepsy majú významné miesto aj monocyty. Tejto téme sa venovali hneď dve prednášky. Prvá od kolektívu autorov pod vedením doc. Mgr. Luděka Slavíka, PhD. z Fakultnej nemocnice Olomouc a ďalšia od našej kolegyne Mgr. Jozefíny Bernátovej o novom parametri pre včasnú diagnostiku sepsy – ESI (early sepsis indicator), ktorý je možné stanovovať na najnovšom type analyzátorov krvných obrazov spoločnosti Beckman Coulter DxH 900. Ten si účastníci mohli pozrieť priamo v sále LabCongressu. K diagnostike sepsy môže prispieť aj prietoková cytometria. Jednotlivé parametre používané k tomuto účelu nám priblížil RNDr. Marián Bobovčák, rovnako zo spoločnosti Beckman Coulter.

DRUHÝ BLOK prednášok sa zamerával na farmakológiu. Prednáška PharmDr. Márie Göböovej, PhD. z Fakultnej nemocnice Nitra je podrobnejšie uvedená v pokračovaní tohto článku. PharmDr. Erik

Puchoň, z Farmaceutickej fakulty UK Bratislava oboznámil účastníkov s najčastejšie monitorovanými liečivami, ich významom a indikáciami. Záujem vyvolala prednáška MUDr. Kataríny Juríčkovej z Národného ústavu detských chorôb o deficite vitamínu B 12, ktorý imituje malígne ochorenie.

TRETÍ PREDNÁŠKOVÝ blok otvoril RNDr. Marko Kapalla, PhD. z EPMA, PPPM Centre, s.r.o. prezentáciou na tému Nové úlohy laboratórnej medicíny a laboratórnej diagnostiky v ére rozvoja PPPM. MUDr. Denisa Hošťáková zo spoločnosti URO-MEDICA s.r.o. oboznámila účastníkov so svojimi praktickými skúsenosťami s používaním parametra PHI (prostate health index) pri diagnostike rakoviny prostaty. Často skloňovaná téma stanovenia troponínov bola v podaní MUDr. Romana Margóczyho, PhD. zo Stredoslovenského ústavu srdcových a cievnych chorôb obohatená o komplexný pohľad na diagnostiku srdcových zlyhaní. Blok zakončil Ing. Boris Popsimov zo spoločnosti Beckman Coulter prednáškou o programoch nápomocných pri automatizácii laboratória.

SPRIEVODNOU AKCIOU konferencie bola ukážka možností automatizácie laboratória v podaní nášho WIT (Workflow & Information Technology Solution) tímu. Účastníci mali možnosť pozrieť si v 3D zobrazení laboratórium, poprechádzať sa v jeho virtuálnych priestoroch a oboznámiť sa s možnosťami middleware programu Remisol.



DRUHÝ DEŇ bol venovaný témam likvorovej diagnostiky a kontroly kvality. Ráno precvičil naše mozgové závity doc. MUDr. Tomáš Lipšic, PhD. z Onkologického ústavu sv. Alžbety interaktívnou prednáškou o erythrocytoch. Vďaka hlasovaciemu zariadeniu mali účastníci možnosť spolupodieľať sa na hodnotení morfológie premietaných buniek. Pán doc. Lipšic bol milo prekvapený znalosťami účastníkov. RNDr. Dana Bertová zo spoločnosti Medirex, a.s. sa v svojej prednáške venovala komplexnej likvorovej diagnostike. MUDr. Daniel Čierny, PhD. nás oboznámil s praktickými skúsenosťami pri stanovovaní voľných ľahkých reťazcov imunoglobulínov v diagnostike sklerózy multiplex v laboratóriách Univerzitetnej nemocnice Martin. Blok zakončila Mgr. Zuzana Gallová z Fakultnej nemocnice v Trenčíne prednáškou o cytológii likvoru.

POSLEDNÝ BLOK venovaný kontrole kvality začal prednáškou Ing. Ľudmily Bittnerovej zo Slovenskej národnej akreditačnej služby na tému nadväznosti v medicínskych laboratóriách. Ing. Mária Vargová nás oboznámila s praktickými skúsenosťami pri validácii a verifikácii zariadení a metód

v laboratóriách Onkologického ústavu sv. Alžbety. Z pohľadu kontroly kvality v hematologickom laboratóriu zaznela prednáška v podaní Ing. Ingrid Škornovej, PhD. z Univerzitetnej nemocnice Martin. Konferenciu ukončil Ing. Marek Budina zo spoločnosti SEKK spol s r.o. Pardubice prednáškou o neistotách a chybách ako kľúčových nástrojoch verifikácie merania v laboratóriu.

ÚČASTNÍCI MALI možnosť zapojiť sa do diskusie prostredníctvom svojho mobilného telefónu cez aplikáciu Spýtaj sa. Obsah každej prednášky je k dispozícii v publikácii Abstrakty z prednášok, prípadne na web stránke podujatia <http://labcongress.meditrend.sk/>.

ĎAKUJEME VŠETKÝM prednášajúcim, že sa s nami podelili o svoje vedomosti a cenné skúsenosti. Poďakovanie patrí všetkým účastníkom a rovnako spoluorganizátorovi akcie – spoločnosti FARMÍ-PROFI, spol. s r.o. za profesionálny a inovatívny prístup.

MARIANNA JAROŠOVÁ
E-MAIL: MJAROSOVA@BECKMAN.COM



TERAPEUTICKÉ MONITOROVANIE HLADÍN LIEČIV

ÚVOD

Terapeutické monitorovanie hladín liečiv znamená stanovenie koncentrácie liečiv v sére alebo iných telesných tekutinách (moč, materské mlieko) u pacientov pomocou špeciálnych analytických metód. Terapeutické monitorovanie hladín liečiv (Therapeutic Drug Monitoring, TDM) a následná interpretácia výsledkov patrí k základnému farmakokinetickému servisu už v mnohých krajinách. Vývoj špecifických laboratórnych metód umožňuje rozvoj tejto oblasti farmakokinetiky. Základným predpokladom TDM je vzťah medzi účinkom liečiva a jeho koncentráciou.

MERANIE SÉROVÝCH koncentrácií liečiv je len jedna časť TDM. Súčasťou farmakokinetického servisu je odborná interpretácia nameraných hladín, ktorá prináša kompletný klinický benefit výsledkov TDM. Klinickí farmaceuti/farmakológovia využívajú pri stanovovaní hladín liečiv poznatky o účinnosti liečiv, ich osude v organizme a o klinickom stave pacienta. Cieľom TDM je úspešná, kvalitná liečba, minimálne riziko predávkovania alebo poddávkovania liekmi, skrátenie dĺžky terapie a hospitalizácie a v neposlednom rade šetrenie finančných nákladov (1, 2, 3, 4).

LIEČIVÁ, U KTORÝCH SA MERAJÚ HLADINY

V klinickej praxi sa monitorujú tie liečivá, ktoré spĺňajú určité predpoklady, ako je:

Úzka terapeutická šírka – je charakteristická malým rozdielom medzi terapeutickou a toxickou dávkou.

Nekorelujúca dávka a účinok – má za následok nepomerne zvýšený účinok pri malom zvýšení dávky.

Dobrá korelácia medzi sérovou hladinou a účinkom – plazmatické hladiny predikujú účinok a toxicitu.

Interindividuálna variácia farmakokinetických parametrov – ako sú klírens alebo distribúcia liečiva v organizme.

Problematicky rozoznatelná toxicita – klinicky sa manifestuje veľmi podobne ako základné ochorenie.

Problematicky rozoznatelný klinický účinok – vyskytuje sa u liečiv, ktoré sa podávajú profylakticky.

Nelineárna farmakokinetika – vedie k rýchlejšej kumulácii liečiva v organizme.

Možnosť zneužitia kvôli farmakologickému účinku – stanovenie hladín má toxikologický význam (1, 3).

PACIENTI, U KTORÝCH SA INDIKUJE TDM

Stanovenie hladín pacientom patrí k štandardnému postupu v nasledujúcich prípadoch:

Zmena farmakokinetiky: obličková nedostatočnosť alebo zvýšený renálny klírens, pečenevé ochorenie, dialýza, zmenený distribučný objem (ascites, edém, popáleniny, gravidita), cirkulačné zmeny (šok,



sepsa, zlyhanie srdca, hydratácia), výrazná zmena hmotnosti, obezita.

Špecifické vekové skupiny: starší pacienti, novorodenci, deti.

Podozrenie na výskyt nežiaducich účinkov liekov a suspektnú toxicitu.

Znížená kompliance a adherencia k liečbe.

Predpoklad používania návykových látok.

Zmeny vo farmakoterapii: zmena dávkových režimov, interakcie liečiv (1, 3, 5).

INTERPRETÁCIA VÝSLEDKOV

Interpretácia výsledkov je súčasťou farmakokinetického servisu. Výsledok TDM bez interpretácie má oveľa nižšiu klinickú výpovednú hodnotu. Sérové koncentrácie liekov musia byť interpretovateľné v kontexte všetkých klinických dát. Interpretácia výsledkov si vyžaduje odborníkov v oblasti farmakokinetiky a farmakodynamiky, akými sú klinickí farmakológovia a klinickí farmaceuti. Súčasťou interpretácie výsledkov je aj návrh ďalšieho dávkového režimu, hodnotenie interakcií, odporúčanie monitoringu nežiaducich účinkov (napr. kontrola ionogramu, EKG, krvného obrazu) a odporúčanie ďalšej kontroly TDM. Odborníci k určeniu dávkových režimov a k predikcii optimalizácie liečby využívajú farmakokinetické programy vychádzajúce z populačno-kinetických dát.

MONITOROVANIE JEDNOTLIVÝCH SKUPÍN LIEČIV

1. ANTIBIOTIKÁ

Aminoglykozidové antibiotiká (AMG) majú úzku terapeutickú šírku. Monitorovanie hladín aminoglykozidových antibiotík vychádza z potreby minimalizovať nežiaduce účinky (nefrotoxicita, ototoxicita, neurotoxicita) a zabezpečiť maximálnu efektivitu antiinfekčnej liečby. Preto je dôležité monitorovať reziduálnu aj vrcholovú hladinu AMG. TDM aminoglykozidov sa stalo bežnou klinickou praxou, bez TDM by sa tieto antibiotiká podávať nemali.

Aminoglykozidové antibiotiká patria medzi koncentračne dependentné antibiotiká, ktorých účinok sa zvyšuje so stúpajúcou koncentráciou liečiva až do 100 násobku minimálnej inhibičnej koncentrácie a obmedzenie predstavujú toxické účinky.

Indikácie TDM aminoglykozidových antibiotík

- Kontrola sérových hladín stabilizovaných pacientov sa opakuje každé 3 – 4 dni.
- U rizikových pacientov (starší pacienti, dialyzovaní pacienti, pacienti so zníženými renálnymi funkciami, kriticky chorí, pacienti so sepsou, dehydrovaní pacienti), pri zmenách farmakokinetiky a pri súčasnom podávaní nefrotoxických liekov (napr. vankomycín, furosemid, amfotericín, colistin) sa odporúča kontrola hladín dokonca denne (1, 4, 5, 6).

Vankomycín patrí medzi časovo-dependentné antibiotiká. Účinok závisí na dobe udržania dostatočných účinných hladín lieku vo vzťahu k citlivosti mikroorganizmu.

Indikácie TDM vankomycínu

- Individualizácia terapie vankomycínom na základe TDM je nevyhnutná hlavne u pacientov: s meniacimi sa obličkovými funkciami, liečených inými nefrotoxickými liekmi, liečených vyššími dávkami ako 4 g/deň, obéznych, dialyzovaných, detí a novorodencov.
- Kontrola sérových hladín stabilizovaných pacientov sa opakuje každé 3 – 5 dni.
- U rizikových pacientov pri zmenách farmakokinetiky, pri súčasnom podávaní nefrotoxických liekov a pri podávaní vysokých dávok vankomycínu sa odporúča kontrola hladín dokonca denne (1, 7, 8, 9).

2. KARDIOGLYKOZIDY

Digoxín je liečivo s úzkou terapeutickou šírkou. Dávkový režim má byť individualizovaný pre každého pacienta vzhľadom na fyziologické funkcie, interagujúce lieky a namerané hladiny liečiva.

Indikácie TDM digoxínu

- Hladina digoxínu by sa mala kontrolovať v ambulantnej starostlivosti 1 – 2x ročne, v nemocnici na začiatku hospitalizácie.
- TDM digoxínu má veľký význam:
 - na potvrdenie liekovej toxicity, overenie compliance, neadekvátnej klinickej odpovede,
 - pri zmenách klinického stavu (napr. obličková nedostatočnosť, hyper- a hypotyreóza, hypokaliémia),
 - pri súčasnom podávaní interagujúcich liekov (napr. amiodarón, cyklosporín, chinidín, verapamil, propafenón) aj pri ich nasadení a vysadení (1, 4, 5, 10).

3. ANTIASMATIKÁ

Teofylín patrí medzi liečivá s úzkou terapeutickou šírkou, má individuálnu toleranciu a častý výskyt

nežiaducich účinkov. Monitoruje sa pri perorálnom aj intravenóznom podaní.

Indikácie TDM teofylínu

- Hladina teofylínu by sa mala kontrolovať u stabilizovaných pacientov 1 – 2x ročne.
- Rizikoví sú pacienti: nad 60 rokov, so srdcovým zlyhávaním, pečeňovým ochorením.
- TDM sa ďalej používa:
 - na potvrdenie nežiaducich účinkov a liekovej toxicity, overenie kompliance, neadekvátnej klinickej odpovede,
 - pri súčasnom podávaní interagujúcich liekov, ktoré zvyšujú hladiny teofylínu (amiodarón, chinolóny, klaritromycín, interferón alfa, propafenón, tiklopidín, verapamil, zafirlukast) alebo ich znižujú (fenobarbital, karbamazepín, rifampicín) (1, 4).

4. ANTIPILEPTIKÁ

Antiepileptiká sa vyznačujú značnou farmakokinetickou variabilitou, sú ovplyvnené metabolickými procesmi a majú významný interakčný potenciál. Vzťah medzi koncentráciou a účinkom nie je úplne jasný. Stanovenie hladín antiepileptík však môže zabrániť nežiaducim účinkom, toxicite a overiť dodržiavanie dávkovacieho režimu.

Indikácie TDM antiepileptík

- Hladina antiepileptík by sa mala skontrolovať v úvode liečby.
- TDM sa indikuje pri úprave dávky, zmene dávkovacieho režimu, k zabráneniu nežiaducich a toxických účinkov, k overeniu kompliance a adherencie k liečbe.
- Antiepileptiká majú vysoký interakčný potenciál. Interagujú medzi sebou, ak sa používa kombinovaná liečba, ale aj s inými liekmi (napr. makrolidové antibiotiká, antimykotiká, antikoagulancia, antidepresíva, kontraceptíva). TDM patrí k hlavnému manažmentu interakcií antiepileptík.
- Rizikoví sú pacienti so srdcovým zlyhávaním, pečeňovými a obličkovými ochoreniami, hypoalbuminemiou.
- Niektorí pacienti sú senzitívni na malé rozdiely v biologickej dostupnosti. TDM má význam pri prechode na iný preparát s rovnakou účinnou dávkou.
- Hladiny antiepileptík sa musia kontrolovať pri status epilepticus a v období tehotenstva (1, 4, 5, 11).

5. IMUNOSUPRESÍVA

Najčastejšie monitorované imunosupresívum je cyklosporín A, ktorý sa používa nielen u pacientov s transplantovanými orgánmi, ale aj na liečbu autoimúnnych ochorení. Okrem cyklosporínu sa v imunosupresívnej liečbe používajú mykofenolát, sirolimus, takrolimus. Frekvencia monitorovania plazmatických koncentrácií imunosupresív závisí od klinického stavu pacienta, obdobia od transplantácie, typu transplantácie a súčasnej liečby.

Indikácie TDM imunosupresív

- TDM sa indikuje u pacientov po transplantácii orgánov ako prevencia odvrhnutia štepú:
 - transplantačné obdobie: každých 24 – 48 h
 - po transplantácii 3 – 6 mesiacov: 2 – 3x týždenne so znižujúcou sa frekvenciou
 - u stabilizovaných pacientov po transplantácii v pravidelných časových intervaloch.
- Kontrola imunosupresívnej liečby u pacientov nastavených na dlhodobú terapiu (1, 4, 5, 12).

ZÁVER

Terapeutické monitorovanie hladín liečiv využíva kombináciu stanovenia hladín liečiv s aplikáciou farmakokinetických a farmakodynamických princípov a vedie k personalizovaniu terapie u individuálnych pacientov. Koncentrácie liečiv musia byť interpretované v spojitosti s klinickým stavom pacienta. K zabezpečeniu kvality TDM servisu prispievajú hlavne klinickí farmaceuti a farmakológovia.

Terapeutické monitorovanie hladín liečiv, ktorého súčasťou je interpretácia výsledkov: optimalizuje farmakoterapiu, minimalizuje nežiaduce účinky liečiv a maximalizuje požadovaný klinický efekt, skvalitňuje starostlivosť o pacienta a znižuje dĺžku hospitalizácie, racionalizuje finančné prostriedky (1, 2, 13).

LITERATÚRA

1. GÖBÖOVÁ, M., KISSOVÁ, V., PALÚCH, Z., KUŽELOVÁ, M.: Terapeutické monitorovanie hladín liečiv a interpretácia namerných hladín v súčasnosti. *Farm obz*, 83,2014, č. 4 – 5, s. 75 – 84.
2. GROSS, A. S. Best practice in therapeutic drug monitoring. *Br J Clin Pharmacol*, 52, 2001, č. (S1), s. 5S – 10S.
3. KUŽELOVÁ, M., ŠVEC, A., ŠVEC, P.: Kapitoly zo všeobecnej klinickej farmakológie 1. vydanie, Bratislava: Farmaceutická fakulta UK, 2011, 196 s.
4. DHILON, S., KOSTRZEWSKI, A.: *Clinical Pharmacokinetics*. 1st edition, London: Pharmaceutical Press, 2006, 262 s.
5. MURPHY, J., E.: *Clinical Pharmacokinetics*. 4th edition, Bethesda: American Society of Health-System Pharmacists, 2008, 463 s.
6. BEGG, E., J., BARCLAY, M., L., KIRKPATRIK, C., J., M.: The therapeutic monitoring of antimicrobial agents. *Br J Clin Pharmacol*, 52, 2001, Supplementum 1, s. 35S – 43S.
7. ROBERTS, J., A. et al.: Therapeutic drug monitoring of antimicrobials. *Br J Clin Pharmacol*, 73, 2012, č. 1, s. 27 – 36.
8. ŠEDIVÝ, J., JEDLIČKOVÁ, A., ČERNÁ, O.: Význam dávkového intervalu pri liečení time-dependentnými antibiotikami (príklady terapeutického monitorovania). *Klin Farmakol Farm*, 21, 2007, č. 3, s. 99–102.
9. RYBAK, M., LOMAESTRO, B., ROTSCHAFER, J., C., MOELLIRING, R. et al.: Therapeutic Monitoring of vancomycin in adult patients: A consensus review of the ASHP, IDSA and SIDP. *Am J Health-Syst Pharm*, 66, 2009, č. 11, s. 82–97.
10. MAGULOVÁ, L.: Terapeutické monitorovanie hladín liečiv. *Metodický list ÚKRFT a LP MZ SR*, 5, 2001; č. 1–2, s. 1 – 8.
11. PALUCH, Z., VYHLÍDALOVÁ, I., CHRBOJKA, P., ALUŠÍK, Š.: Terapeutické monitorovanie liečiv v bežnej praxi. *Acta medicae*, 2, 2013, č. 9, s. 10–15.
12. KRIŠKA, M. a kol.: *Memorix klinickej farmakológie a liekov*. 1. Vydanie, Bratislava: Slovak Academic Press, 2006, 610 s.
13. RIED, L., D., HORN, J., R., MCKENNA, D., A.: Therapeutic drug monitoring reduces toxic drug reactions: a meta-analysis. *Ther Drug Monit*, 12, 1990, č. 1, s. 72–78.

PHARMDR. MÁRIA GÖBÖOVÁ, PHD.

INTERNÁ KLINIKA, FAKULTNÁ NEMOCNICA NITRA,
ŠPÍTÁLSKA, 950 01 NITRA



UPGRADE INTEGROVANÉHO SYSTÉMU POWERLINK ANALYZÁTOREM DXC 700 AU

Společnost Beckman Coulter nabízí integrovaný systém PowerLink, který propojuje imunochemický analyzátor Dxl 800 (Dxl 600) s biochemickým analyzátořem řady AU, aktuálně DxC 700 AU. Produkt je určen pro středně velká laboratorní pracoviště poskytující biochemické a imunochemické analýzy. Je optimální jak pro statikové, tak rutinní laboratoře.

ZPŮSOB PRÁCE

Do vstupního/výstupního modulu PowerLink se vloží uzavřené/otevřené primární zkumavky ve stojánek pro 50 vzorků. Po evidenci čárového kódu jsou zkumavky uloženy do unašeče na dopravníku. Uzavřené zkumavky jsou odvíčkovány. Poté je vzorek předložen analyzátoru Dxl 800 (Dxl 600), který z něj odebere alikvot (aliquoty při velkém počtu požadovaných metod) a ten si uloží do interního chlazeného skladu pro následné vlastní provedení imunochemických analýz. Vzorek je neprodleně propuštěn a dopravníkem přesunut k analyzátoru DxC 700 AU. Ten provede požadovaná biochemická vyšetření. Odtud se primární zkumavka přesune do vstupního/výstupního modulu PowerLink a uloží zpět do stojánu.

PŘI NEČITELNÉM čárovém kódu nebo při opakovaném vložení vzorku je tento přesunut do chybové zóny. Urgentní vzorky je možné vložit do „prioritního vstupu“, aby dostaly při zpracování přednost před rutinními.

OBA ANALYZÁTORY jsou přístupné i přímo („zepředu“), a to přes standardní input a output v případě Dxl 800 (600), resp přes statimový kruh u DxC 700 AU. Toho lze využít jak pro reálné statimy, tak i pro opakování vzorků nebo při závadě propojovacího modulu.

SPECIFICKÉ VLASTNOSTI SYSTÉMU POWERLINK S ANALYZÁTORY DXC 700 AUA DXI 800

Určitě zde patří zpracování mixu zkumavek se zátkou i bez zátky s automatickým odvíčkováním zkumavky a přímé odpipetování podílů vzorků pro imunochemická vyšetření bez další zádrže zkumavky se vzorkem.

NEPOCHYBNÝM přínosem zapojení DxC 700 AU do integrovaného systému PowerLink je možnost doplňování reagentů za provozu včetně ISE, podobně jako je tomu v případě Dxl 800. To umožňuje zkrátit případné odstávky celého systému vyžadované potřebou provedení údržby na minimum (cca 15 min denně), plus čas fyzického doplnění reagentů.

AKTUÁLNĚ JSOU systémy PowerLink s analyzátory DxC 700 AU a Dxl 800 instalovány na 3 pracovištích v České republice (v dalších 5 laboratořích je instalován ještě předchozí biochemický analyzátor AU680).

O ZKUŠENOSTI s instalací a první dojmy z provozu upgradovaného systému PowerLink se s Vámi podělí Ing. Petr Vaník, analytik biochemické laboratoře v Rychnově nad Kněžnou: „Hlavními analyzátory naší laboratoře před upgradem byl biochemický analyzátor AU680, spojený s imunochemickým analyzátořem Dxl 800 do linky PowerLink. Jako

| Parametr | PowerLink | DxC 700 AU | Dxl 800 |
|---------------------|--|--|--|
| Input/output vzorků | 4 x 50 vzorků; 10 x prioritní; 10 x error lane | Integrovaná linka; +; 22 chlazených pozic (statimový kruh) | Integrovaná linka; +; I: 30 x 4 vzorků; O: 31 x 4 vzorků |
| Průchodnost | 200 vzorků/hod | | |
| Výkon za 1 hod | | 800 testů fotometrie; 600 testů ISE; 1 200 testů celkem | Až 200 alikvotů; 200 – 400 testů |
| Reagencie | | 60 R1 a 48 R2; + 3 ISE | 50 |
| Balení reagentů | | Variabilní | 2 x 50 testů; 2 x 100 testů |



statimový a záložní stroj jsme používali samostatně stojící AU640. A právě stav analyzátoru AU640, na jehož výrobním štítku je rok 1998, nás nutil uvažovat o obnově přístrojového vybavení. Možností jsme měli několik. Místo jednoduché výměny starého AU640 za volně stojící AU680 nebo novější DxC 700 AU jsme si vybrali právě upgrade AU modulů v lince PowerLink.“

INSTALACE

„Běh naší laboratoře se řídí potřebami klasické okresní nemocnice, to znamená non-stop provoz 24 hodin denně 7 dní v týdnu. Proto jsme s techniky firmy Beckman Coulter připravili plán instalace tak, abychom byli schopni stále měřit – veškerý provoz jsme přesunuli na staříčkový AU640. Dvacetiletá 640tka se své labutí písně zhostila opravdu se ctí! Následně došlo k odpojení AU680 od PowerLinku, vybalení a připojení nového DxC 700 AU do linky

a jeho zprovoznění. Poté jsme spolu s aplikačními specialisty firmy provedli instalaci a kalibraci metod na novém stroji a mohlo dojít k jejich verifikaci s AU680. Následující 3 týdny jsme měli v laboratoři vedle sebe funkční AU řadu firmy Beckman Coulter – AU640, AU680 a DxC 700 AU. V té době se laborantky seznamovaly s novinkami ovládacího software, aby si dokázaly s novým strojem poradit i v době pohotovostních služeb. Po cca. měsíci jsme mohli definitivně vypnout AU640 a na jeho místo přesunout AU680. Celá akce s výměnou AU modulů proběhla bez větších potíží tak, že naši uživatelé nepoznali, co všechno se za zdmi laboratoře děje. A to nejen díky profesionálnímu přístupu techniků a aplikačních specialistů firmy Beckman Coulter a STAPRO, ale také vstřícnosti a toleranci laborantek i pomocného personálu, který se musel za plného provozu proplétat mezi analyzátory ve stísněných prostorech mezi klubky kabelů a hadic.“

ORGANIZACE PROVOZU

„V současné době máme v rutinním provozu jak systém PowerLink s DxC 700 AU, tak samostatný AU680. Statimové metody jsou měřeny na obou analyzátořech. Postupně se snažíme vyladit provoz tak, aby se vzorky rovnoměrně rozložily mezi oba analyzátory a zrychlil se průchod vzorku laboratoři i vydání výsledků. Laborantka při označování zkumavky štítkem pozná, zda vzorek musí do linky s imunochemickým modulem DxI anebo může být změřen jen na samostatném analyzátoru AU680.“

VYUŽITÍ PŘEDNOSTÍ

„Naše laboratoř má několikaleté zkušenosti s fungováním systému PowerLink. Upgrade biochemického modulu pro vlastní provoz linky nepředstavuje žádnou změnu. Samotný analyzátor DxC 700 AU je pokračováním modelu AU680. I proto byl přechod na nový stroj relativně rychlý. Asi největší změnou je nový ovládací software, který se snaží zachovat co možná nejvíce možností nastavení z původní řady AU a uživatelsky se přiblížit snadnému ovládní strojů Dx. Přínosem je sjednocení aplikací u obou našich biochemických analyzátořů a možnost případného zavádění nových metod, na které se nám na AU680 nezbyvaly pozice.“

DALŠÍ OČEKÁVÁNÍ

„Naše laboratoř nevyužívá klinický software Remisol, proto pro nás bylo po uvedení systému PowerLink do provozu prioritou umožnit opakované měření vzorků mimo rozsah měření. Toto jsme vyřešili nastavením výpočtů v našem LISu a tento systém úspěšně funguje i po provedení upgrade. Nyní má firma Beckman Coulter připraven s firmou STAPRO sofistikovanější nástroj, který bychom rádi v nejbližší době nasadili do ostrého provozu. Dále připravujeme zavedení inovovaných metod na stanovení lékových hladin a ethanolu.“

„**A CO BYCHOM PŘIVÍTALI?** Nová funkce analyzátoru, která je u nás využívána minimálně, je možnost doplňování reagentů „za chodu“. Laborantky by spíše ocenily možnost otáčení reagentním kruhem i v režimu „stand-by“, podobně jako je tomu u statimového kruhu. Chápeme snahu firmou mít nastavení metody pod vlastní kontrolou v souvislosti se zodpovědností za kvalitu měření, ale určitě by nás potěšila možnost uživatelské úpravy některých parametrů metod, například stabilitu reagentů „on board“.“

NÁMĚTY a připomínky k provozu samozřejmě vítáme a předáváme je dále do firmy. Nicméně se sluší podotknout, že parametry testu jsou fixně

dány v „uzavřených“ kanálech vyhrazených pro reagentie Beckman Coulter. V analyzátoru DxC 700 AU je minimálně 18 kanálů otevřených pro metody jiných dodavatelů a lze zde umístit také modifikace firemních metod.

PETR MATĚJKA

E-MAIL: PMATEJKA@BECKMAN.COM

ING. PETR VANÍK

**ODDĚLENÍ LABORATORNÍ MEDICÍNY,
NEMOCNICE RYCHNOV NAD KNĚŽNOU,
JIRÁSKOVA 506, 516 23 RYCHNOV NAD KNĚŽNOU
E-MAIL: VANIK.PETR@NEMOCNICERK.CZ**



POWER EXPRESS VERZE 3.5

Systém Power Express je rozšiřitelný systém pro zpracování zkumavek se vzorky, který slouží k automatizaci preanalytických, analytických a postanalytických procesů v klinické laboratoři.

SYSTÉM POWER EXPRESS umožňuje přípravu zkumavek se vzorky před analýzou, třídí zkumavky se vzorky přímo do příslušných analyzátorů požadovaných pro analýzu a poté směřuje zkumavky do výstupního stojánku nebo do skladovacího prostoru. Tato plně automatizovaná verze umožňuje napojit jak analyzátor firmy Beckman Coulter, tak analyzátor jiných výrobců.

V této době přichází na trh nová verze Power Express ve verzi 3.5, která nabízí několik nových klíčových funkcí a vylepšení. Mezi ty hlavní patří:

- nový modul pro hromadný vklad zkumavek (Bulk loader)



Nový modul pro hromadný vklad zkumavek (Bulk loader)

- rozšířená škála použitelnosti zkumavek včetně podpory zkumavek typu Sarstedt
- připojovací modul pro koagulačním systémem Sysmex CS-5100
- připojovací modul pro DxH Workcell
- zdokonalený autodisposal zkumavek ze skladu (podle času, typu materiálu atd.)
- upgrade ovládacího software Cennexus

MIROSLAV JANOŠÍK

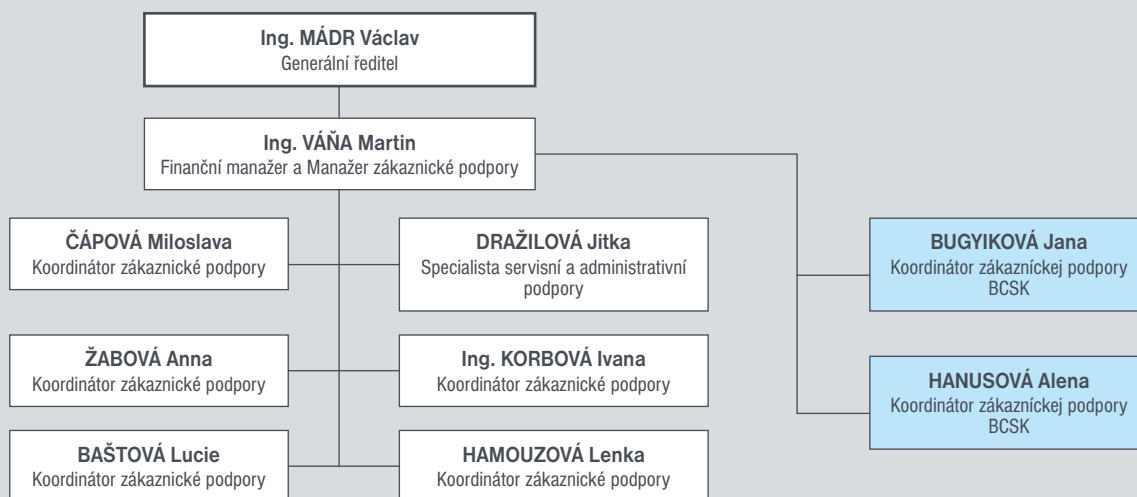
E-MAIL: MJANOSIK@BECKMAN.COM



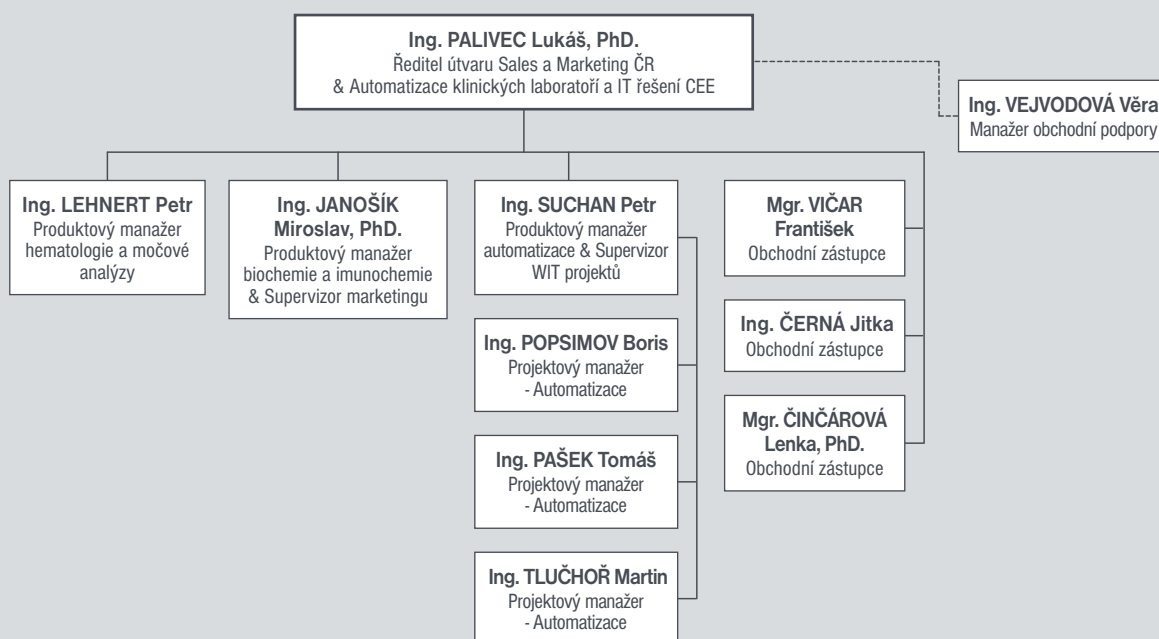
ORGANIZAČNÍ STRUKTURA BC

Vážení zákazníci a obchodní partneři, každá organizace podléhá vývoji, jehož součástí jsou zpravidla změny v organizačním uspořádání. Beckman Coulter Česká republika v rámci své strategie takovou změnu provedl – oddělil obchodní činnost od aplikační podpory. Nová organizace obchodního týmu umožní nabízet zákazníkům komplexní řešení laboratorních provozů v souladu s moderními trendy inteligentní laboratorní technologie. Útvar aplikační podpory bude řídit RNDr. Štěpán Tintěra a Obchodní útvar, zahrnující i Útvar automatizace laboratorních provozů, bude řídit Ing. Lukáš Palivec, Ph.D. Věříme, že tyto změny přispějí k zefektivnění a posílení nabízených služeb pro vás – zákazníky a partnery Beckman Coulter Česká republika. Vyobrazené schéma ukazuje celkovou strukturu Beckman Coulter včetně servisního útvaru a oddělení zákaznické podpory (objednávky).

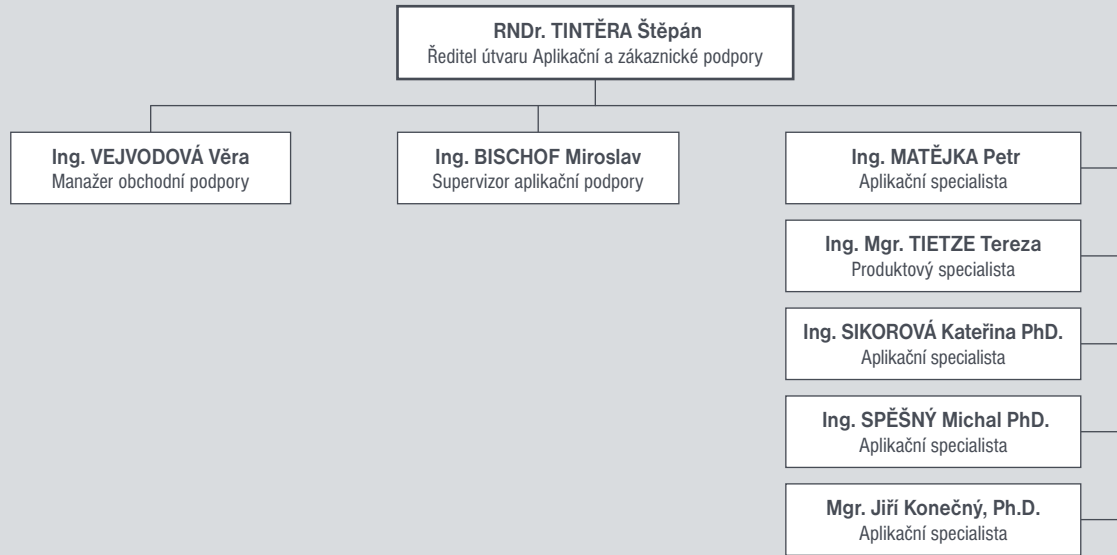
ODDĚLENÍ ZÁKAZNICKÉ PODPORY



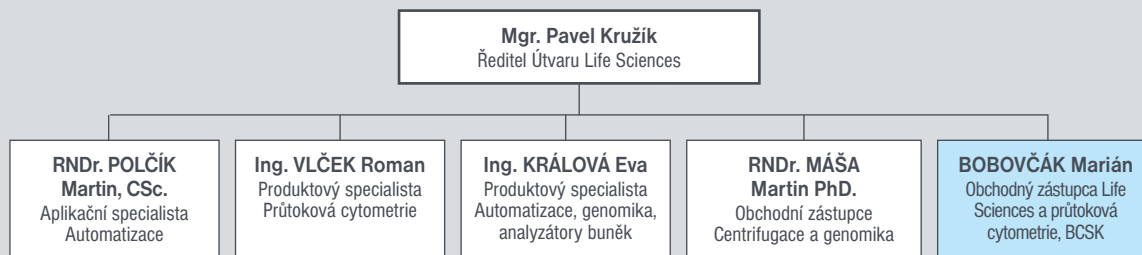
ÚTVAR SALES A MARKETING ČR & AUTOMATIZACE KLINICKÝCH LABORATOŘÍ A IT ŘEŠENÍ CEE



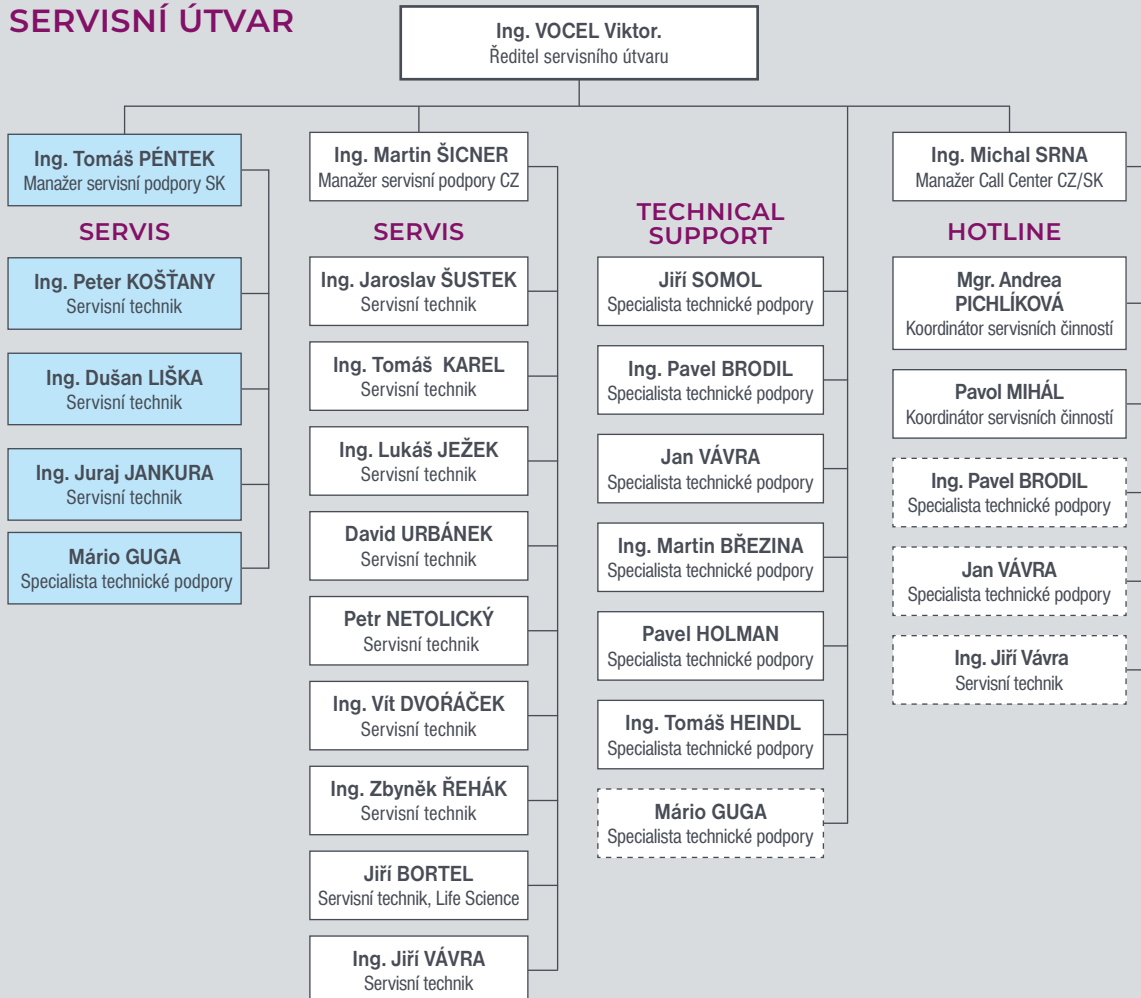
ÚTVAR APLIKAČNÍ A ZÁKAZNICKÉ PODPORY



OBCHODNÍ ÚTVAR LIFE SCIENCE



SERVISNÍ ÚTVAR





JAK POMÁHÁME NEVIDOMÝM SE SVĚTLUŠKOU SVÍTIT NA CESTU

Světluška je projekt Nadačního fondu Českého rozhlasu fungující od roku 2003. Pomáhá zrakově postiženým vyrovnávat podmínky se zdravými lidmi, a tím směřovat k osamostatnění a naplnění životních rolí dle své volby. Provází těžce zrakově postižené ve všech klíčových etapách jejich života.

PŘISPÍVÁ NAPŘÍKLAD na speciální elektronické pomůcky s hlasovým výstupem nebo hmatovým displejem, výcvik vodicích psů a osobní asistenty dětem i seniorům. Rovněž podporuje rozvoj talentu a tvořivých schopností nevidomých. Světluška zkrátka pomáhá lidem žít smysluplný život podle své volby.

SPOLUPRÁCE se Světluškou započala již v roce 2017, kdy se Beckman Coulter zapojil do Nočních běhů pro Světlušku a při té příležitosti věnoval projektu přes 160 000 Kč. Zaměstnanci se do světluščího roje znovu zařadili i v minulém roce. Rozzářit pražskou Stromovku se rozhodlo přes 65 spolupracovníků Beckman Coulter. „Běhů pro Světlušku jsem se minulý rok zúčastnil poprvé a byl jsem překvapen neuvěřitelnou energií, která sálala ze všech přítomných lidí kolem. Událost pro nás měla kromě charitativního aspektu ale i další rozměr. Byla perfektním stmelujícím zážitkem pro všechny naše zaměstnance, kteří se rozhodli do běhu zapojit,“ říká ředitel Jan Pospíšil. U sportování ale nezůstalo, dobrovolníci se vrhli také na pečení. Uspořádali vnitrofiremní Snídani pro Světlušku, kdy vlastnoručně napečené dobroty prodali ostatním zaměstnancům a utrženou částku připojili k celkovému daru. Ten v roce 2018 činil bezmála 225 000 Kč.

NA BĚHY se mohou zájemci těšit rovněž tento rok. Letošní Noční běhy pro Světlušku spolu

s ČSOB Na Zdraví odstartují 28. 3. v Plzni. Následovat bude šňůra běhů potmě v Praze (11. 4.), Brně (17. 4.), Olomouci (25. 4.) a v Jihlavě (30. 4.). Pokud se chcete do roje světlušek připojit i vy, dlouho neotálejte, nejrychlejší z vás spolu se vstupenkou obdrží také startovní balíček s čelovkou a běžeckou termofólií od generálního partnera běhu ČSOB Na Zdraví a sportovním vakem na záda včetně slevového kupónu od hlavního partnera běhu společnosti Hannah. Společně můžete rozzářit nejen města, ale hlavně životy nevidomých – výtěžek ze všech běhů totiž poputuje ve prospěch Světlušky, projektu Nadačního fondu Českého rozhlasu.

KROMĚ BĚHŮ pořádá Světluška každoročně i další akce. V létě je pro milovníky kávy připravena pojízdná Kavárna POTMĚ, v níž návštěvníci díky nevidomým číšníkům kromě kávy ochutnají i život potmě. Každoročně se na podzim koná v ulicích měst také velká sbírka pro Světlušku a dále velký koncert pro Světlušku přenášený Českou televizí a Českým rozhlasem.

ZAPOJTE SE A POMOZTE S NÁMI ROZZÁŘIT ŽIVOTY NEVIDOMÝCH!

MIROSLAV JANOŠÍK
E-MAIL: MJANOSIK@BECKMAN.COM

KDE SE MŮŽEME SETKAT

| | | |
|---|--|--|
| 7. - 9. 4. 2019 DIALOG 2019 Valeč | 26. - 28. 5. 2019 XXXIII. Olomoucké hematologické dny | 5. 6. 2019 INTERLAB 2019 Ústí nad Labem |
| 17. 4. 2019 Nejedlého Kladno | 29. - 30. 5. 2019 37. Mezikrajské dny klinické biochemie Lázně Bělohrad | 10. - 11. 6. 2019 Pracovní dny laboratorní medicíny Žermanice |
| 19. - 23. 5. 2019 EUROMEDLAB Barcelona | | |



Generální partner běhu:



Hlavní partner běhu:



NOČNÍ BĚH PRO SVĚTLUŠKU

spolu s



Na Zdraví 

2019

**28. BŘEZNA VE 19.00
PLZEŇ, DEPO2015**

**11. DUBNA VE 21.00
PRAHA, STROMOVKA**

**17. DUBNA VE 21.00
BRNO, PARK LUŽANKY**

**25. DUBNA VE 21.00
OLOMOUČ, BEZRUCOVY SADY**

**30. DUBNA VE 21.00
JIHLAVA, AMFITEÁTR**

**REGISTRUJTE SE NA
BEHPROSVETLUSKU.CZ**

I BĚHAT VE TMĚ MÁ SMYSL.



Nadační fond
Českého rozhlasu

Hlavní partner Světlušky:

HERBADENT
ORIGINAL
SINCE 1897

Zřizovatel a mediální partner:

Český rozhlas

Mediální partner:

Česká televize

NOVÝ KONCEPT
AUTOMATIZACE LABORATOŘÍ



DxA 5000

GOOD BYE FIFO*...

* First In First Out



**BECKMAN
COULTER**