

# LABOR AKTUELL

ročník 23 | číslo 2 | rok 2019

Časopis pro klienty Roche Diagnostics v České a Slovenské republice



Vážení čtenáři,

jako hlavní téma tohoto čísla jsme vybrali diskutovaný, někdy snad až politicky líbivý pojem: personalizovaná medicína. Víme však, co si pod ním skutečně představit?

Před pár lety jsem se z náhlého vnuknutí stala zničehonic včelařkou. Ve své péči mám toho času dvě, respektive tři včelstva. To první jsou takzvané „pěší“ včely. Můj muž mi vysvětlil, že jsem si pravděpodobně koupila včely s rodokmenem sahajícím k původnímu druhu z teplé Keni. Nemohu se tedy divit, že jsou poněkud zimomřivé. Když je podle nich nehezky – fouká, je zima, poprchává nebo je moc brzo či pozdě – tak neuvidíte ani křídlo. Jsou hodné, mírumilovné a... líné. Preferují květiny v blízkém dosahu, čímž mě nutí sázet medonosný porost do těsné blízkosti úlu. Druhé včelstvo mám teprve pár týdnů – je to vlastnoručně z jabloně odchycený roj. Jeho příslušnicím říkáme „stíhačky“ a jsou pravým opakem „pěšaček“. Je jich všude plno téměř za každého počasí a čile létají od tmy do tmy. Přistupuji k nim obezřetně, neboť nejsou vůbec mírné. Třetí včelstvo jsou včely „divoké“, a to



v pravém slova smyslu. Stydím se, ale přiznávám, že jsem se je léta snažila bezúspěšně zahubit, protože žijí v dutině naší chaty. Nevadilo by mi, že tam bydlí, ale naneštěstí okupují prostor za elektrickou rozvodnou skříní a obávám se, že důsledkem jejich neutuchající pilné práce chata jednoho dne vyhoří – typičtí squatterři. Neskutečná odolnost vůči mým zavilým útokům mne nakonec dostala na kolena a velice si jich považuji.

Na první pohled jsou to všechno „JEN“ včely. Povinné preventivní léčení musím aplikovat na všechna včelstva, stejnou dávkou ale jedny mohou zahubit, druhé zanedbat. A to nemluvíme o jednotlivých včelkách, jejich životech a strastech v rámci superorganizované komunity.

Věřím, že personalizovaná medicína bude čím dál běžnější a skutečnější. Protože i každý člověk je jedinečný. Kolik ale existuje pohledů, aspektů a úskalí, vám přiblížíme prostřednictvím komentářů dvou mých kolegů z Roche, kteří jsou každý jinak personalizovanou medicínou zaměstnaní, a dvou sdělení „z druhé strany“ – ředitelky aliance a představitelky patientského sdružení. Je to zajímavé čtení.

Dalším blokem článků jsou příspěvky z laboratoří. Je na nich patrné velké zapálení autorů pro věc. Nezáživné téma statistické kontroly kvality se při výkladu v historických souvislostech může stát pozoruhodným příběhem snahy o soustavné vyrovnávání se se změnami, které s sebou přináší různá doba. Porovnání POCT přístroje a „velkých“ laboratorních koagulometrů dokumentují až možná překvapivé výsledky. V neposlední řadě zde máme kratounek sdělení o vydání ojedinelé publikace – skript pro IHC, jež jsou příkladem, jak se nespokojit s úrovní vzdělávání a s obdivuhodným nasazením nad rámec každodenní práce sepsat a předat v kondenzované podobě vlastní praktické zkušenosti.

A protože nikdo nemůže být současně na několika místech, tak snad oceníte reportáže popisující, jaké to bylo v měsíci květnu v Brně, Barceloně či v Počátcích, kde se konaly zajímavé akce.

Přinášíme také novinky – ať už je to screening preeklampsie v prvním trimestru těhotenství, který si jen s obtížemi nachází cestu do porodnických guidelines, nebo nové diagnostické metody a softwarová řešení. A když se díváme dopředu, je poetické si připomenout, jaká byla očekávání a okolnosti vývoje oboru před více než dekádou. Také vám to připadá nedávno? Nebo dávno?

Krásné počtení a hodně zdaru!

Ing. Kateřina Málková  
šéfredaktorka časopisu



## KLINICKÁ HODNOTA DIAGNOSTIKY



Co je „personalizovaná zdravotní péče“?

*MSc. Tekla Horňáková, Ph.D.*

3



Personalizovaná medicína: Realita, nebo fikce?

*RNDr. Jan Berka, Ph.D.*

8



Personalizovaná medicína: co to znamená a jaké přináší výzvy pro pacienty?

*Eva Knappová*

9



Hlas onkologických pacientů byl slyšet v německém Penzbergu

*Mgr. Petra Adámková*

10



Screening preeklampsie v I. trimestru těhotenství

*prof. MUDr. Marek Lubušský, Ph.D., MHA, Mgr. Lucie Roubalová*

11

## ZKUŠENOSTI Z LABORATOŘÍ



Stručná historie QC a současnost SQC

*MUDr. Jaroslava Ambrožová*

17



Porovnání PT a aPTT mezi POCT přístrojem CoaguChek® Pro II a koagulačními analyzátory cobas t 511 a Sysmex CS-5100

*Ing. Martin Pulcer, Ph.D., MBA, Ondřej Hývňar*

25



Nový pomocník pro laboranty – skripta pro IHC praxi

*PharmDr. Aleš Zima, Ph.D.*

33

## INOVACE KOLEM NÁS



Test cobas® CMV na systému cobas® 4800

*MUDr. Igor Blanárik*

34



Možnosti testování HCV infekce – NAT, nebo antigen?

*Mgr. Petra Trachtulcová, Ph.D.*

37



Polymerázová řetězová reakce v průběhu třiceti let od první publikace – 8. část

*MUDr. EMIL PAVLÍK, CSc.*

44



cobas® infinity central lab

*Mgr. Ondřej Šimek*

49

## PŘEDSTAVUJEME NOVÉ KOLEGY



Vitajte v centre zákaznické podpory Roche!...

*Mgr. Tomáš Tarčák*

51

## UDÁLOSTI VE ZKRATCE



„Další využití kardiálních markerů“ – Symposium Roche Diagnostics na XXVII. výročním sjezdu ČKS

*MUDr. Tereza Rádl*

53



Pracovní dny molekulární diagnostiky – Počátky 2019

*Mgr. Nikola Hudečková, Ing. Michaela Madleňáková, Mgr. Tomáš Dráb, Ph.D.*

56



IFCC-EFLM Euromedlab v Barceloně s jedním netradičním návštěvníkem

*Ing. Igor Klimíček, MBA*

59

## NOVINKY NA MOJEMEDICINA.CZ



Komiks o hemofilii, život s roztroušenou sklerózou a inspirativní příběhy MEDx Talks nově na MojeMedicina.cz

*Mgr. Veronika Bačová*

61

## Z KUCHYNĚ ROCHE



Pstruh na grilu

*Ing. Radoslav Blažek, MBA*

63



Ve společnosti Roche věříme, že personalizovaná zdravotní péče (Personalised Health Care, PHC), nebo také precizní medicína (precision medicine), dokáže proměnit životy pacientů tím, že jim poskytne péči šitou na míru, a napomůže tak rychlejší a účinnější prevenci, diagnóze a léčbě.

## Co je „personalizovaná zdravotní péče“?

**MSc. TEKLA HORŇÁKOVÁ, Ph.D.**

*ROCHE s.r.o., Pharmaceutical Division*

Díky technologickému pokroku, novým možnostem diagnostiky a rostoucímu počtu léků vyvíjených pro specifické skupiny pacientů roste i úroveň personalizované zdravotní péče.<sup>1-3</sup> Obrovský potenciál a možnosti, které do zdravotní péče přináší personalizace, tedy rozlišení individuálních potřeb každého pacienta, rozpoznalo také World Economic Forum, které už před dvěma lety určilo precizní medicínu za jeden z pilířů své celosvětové systémové iniciativy Shaping the Future of Health and Healthcare.<sup>3</sup>

Dříve byli pacienti s určitým onemocněním léčeni stejnými léky a lékaři nevěděli, proč u některých pacientů léky zabírají lépe než u jiných. Například v onkologii se nádorová onemocnění dříve dělila pouze na základě toho, který orgán postihují, např. nádory plic, prsu nebo jater. Většina pacientů s určitým typem nádoru byla léčena chemoterapií, která nejvíce poškozuje rychle rostoucí buňky v lidském

těle, což jsou zejména nádorové buňky.<sup>1,2</sup> Dnes však víme, že rakovina není jedna nemoc, ale výsledek nespočetných poškození DNA. Přístup k léčbě nádorových onemocnění se tak začal zásadně měnit. Lékaři dokážou rozpoznat klíčové poškození nádorové DNA (genomu nádoru) a díky tomu mohou lépe předvídat, jak pacient zareaguje na danou léčbu. Pomocí sofistikovaných testů a bioinformatických nástrojů je možné přesně diagnostikovat nejen některá dědičná onemocnění, ale i některá onemocnění vzniklá poškozením DNA v průběhu života a vyvinout cílenou léčbu. Naše poznání v oblasti medicíny neustále roste, přičemž u některých onemocnění (např. u Alzheimerovy choroby) teprve začínáme lépe rozumět tomu, čím jsou způsobena.<sup>1,2</sup>

S nástupem technologie sekvenování nové generace, digitalizace dat a umělé inteligence je možné čím dál lépe přizpůsobovat léčbu konkrétnímu pacientovi nebo malé skupině pacientů. Dnes máme k dispozici mnohem více informací, které nám pomáhají zjišťovat, jak se daná onemocnění projevují u různých pacientů a jaký mají vliv na jejich každodenní život. To spolu s hlubším pochopením molekulární podstaty onemocnění a novými

### DŘÍVE

- Dělení nemocí na základě toho, kterou část těla, resp. orgán postihují
- Metoda pokus-omyl
- Jednotná léčba pro všechny
- Papírová dokumentace

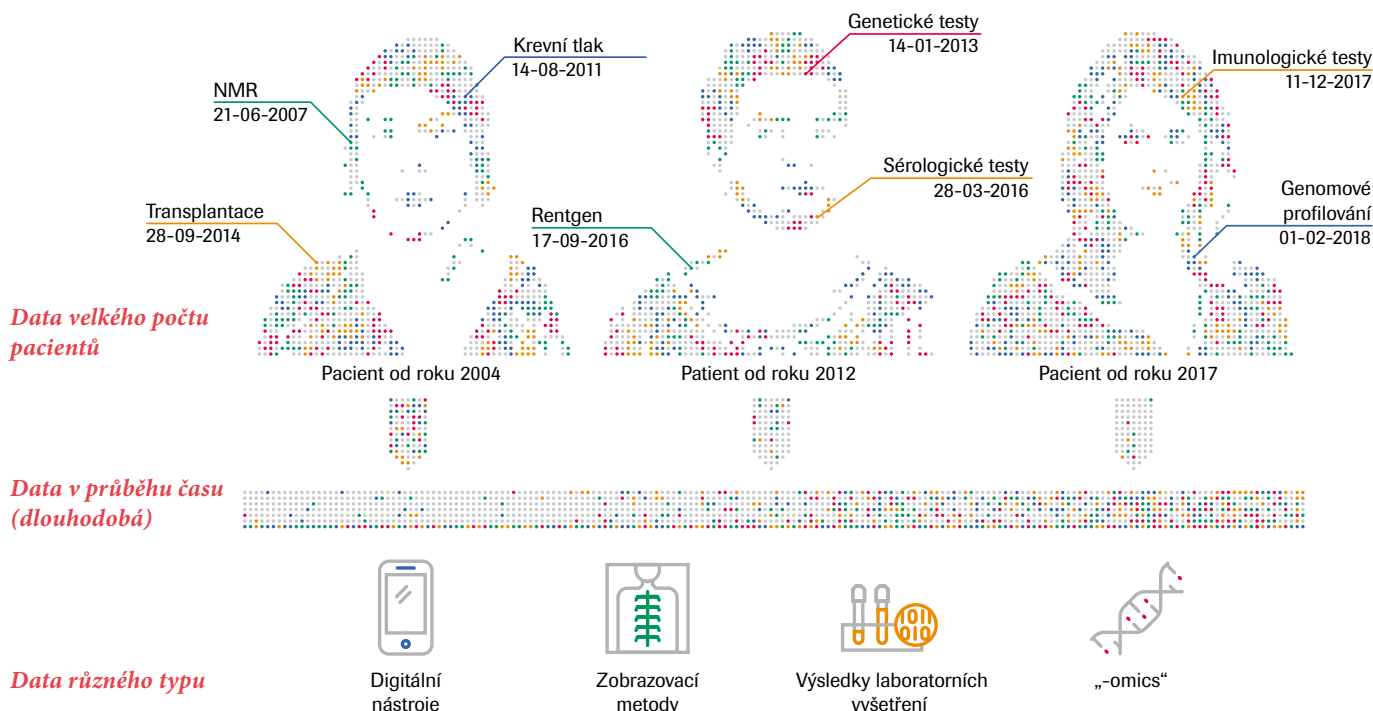


### DNES

- Pochopení molekulární podstaty onemocnění
- Neustálé učení se umělé inteligence ze zkušeností a diagnóz konkrétních pacientů
- Možnost přizpůsobení léčby konkrétním potřebám pacienta
- Sdílení poznatků mezi lékaři, vědci, pojišťovnou, pacienty a farmaceutickými společnostmi v digitalizované podobě

Více naleznete na  
<https://www.mojemedicina.cz/phc.html>





## Komplementární dlouhodobě sbíraná data, jež lze škálovat

Roche personalised health care (PHC) programme © 2019

možnostmi diagnostiky přinese zásadní změny ve vývoji léků, jejich schvalování i úhradě, ale také to bude mít významný vliv na rozhodování pacientů a jejich lékařů o tom, zda, kdy a jak léčit určité onemocnění.<sup>1-3</sup>

### Jaké změny přináší personalizovaná zdravotní péče pro lékaře, pacienty a společnost?

#### Lékaři

Personalizovaná zdravotní péče přináší větší jistotu při rozhodování o vhodné léčbě a lepší výsledky pro pacienty. Zároveň pomáhá lékařům lépe se vyznat v čím dál složitějším spektru možností léčby.<sup>1</sup>

#### Pacienti

Personalizovaná zdravotní péče prodlužuje život a zvyšuje jeho kvalitu. To znamená méně zbytečné léčby, méně nežádoucích účinků a souvisejících nákladů díky chytřejšímu rozhodování o tom, zda, kdy a jakým způsobem pacienta léčit. To přináší pacientovi větší klid v duši a vyšší pravděpodobnost úspěchu léčby.<sup>1</sup>

#### Společnost

Personalizovaná zdravotní péče znamená pro společnost efektivnější využívání finančních prostředků v systému zdravotní péče, vyšší procento vyléčených pacientů a nižší zátěž způsobenou onemocněním.<sup>1</sup>

### Genomová analýza nádoru a personalizovaná zdravotní péče

Až donedávna se nádorová onemocnění dělila pouze na základě toho, který orgán postihují, nebo podle toho, kde byla v těle poprvé nalezena, tedy například na karcinom prsu, tlustého střeva, kůže nebo plic. Díky technologickému pokroku a novým vědeckým poznatkům dnes víme, že rakovina je komplexní onemocnění.<sup>4</sup>

V Roche věříme, že každý člověk je jedinečný a stejně tak jeho nádorové onemocnění.<sup>5</sup>

Zásluhou technologického pokroku a nových vědeckých poznatků dnes víme, že rakovina je výsledkem hromadění genomových změn neboli poškození

v nádorové DNA. V procesu vzniku a vývoje nádorového onemocnění může být nesčetné množství genů změněno nesčetnou kombinací genomových změn. Tím vznikne genomový profil nádorového onemocnění. Jedinečné složení nádorové DNA pacienta se tedy nazývá genomový profil nádoru.<sup>4,6</sup>

Při diagnostickém rozhodování a v používání protinádorových léků budou stále víc a víc hrát zásadní roli rozvíjející se obory jako zpracování dat, umělá inteligence a technologie sekvenování nové generace, která umožňuje identifikovat jedinečné poškození nádorového genomu.<sup>3</sup> Společnost Roche si uvědomuje naléhavou potřebu komplexní analýzy nádorových onemocnění u pacientů z důvodu zlepšení klinické praxe a posílení výzkumu a vývoje ve prospěch pacientů.<sup>4</sup>

Za tímto účelem získala společnost Roche v roce 2015 většinový podíl ve společnosti Foundation Medicine, Inc., (FMI) a následně se v roce 2018 tato inovativní společnost stala součástí skupiny Roche.<sup>7</sup> Partnerství se společností Foundation Medicine umožňuje společnosti Roche



naplnit jeden z pilířů jejího poslání – vyvíjet ještě komplexnější diagnostické metody a ještě specifitější léčbu nádorových onemocnění. Vzhledem k tomu, že se jedná o dva vedoucí představitele v oblasti onkologie, partnerství těchto

- FoundationOne® Heme – komplexní genomové profilování pro hematologické malignity a sarkomy<sup>12</sup>

Komplexní genomové profilování nádoru Roche Foundation Medicine detekuje

*Nacházíme se v historicky přelomové éře zdravotní péče, kdy sblížení lékařských znalostí, technologií a nauky o datech přináší revoluci do oblasti péče o pacienty a novou úroveň personalizace zdravotní péče. V společnosti Roche propojujeme jedinečné znalosti lidské biologie s novými způsoby, jak analyzovat zdravotní data. Naši vizi je zajišťovat, aby screening, diagnóza, léčba i prevence rychleji a účinněji proměňovali životy lidí všude na světě, a to díky tomu, že zajistíme správnou léčbu na míru pacientovi ve správný čas.*

dvou společností posouvá personalizovanou zdravotní péči v onkologii na další úroveň. Společným cílem je usnadnit a zrychlit společný boj proti nádorovým onemocněním.<sup>7</sup>

Spolupráce společností Roche a Foundation Medicine se zaměřuje na tvorbu a zpracování molekulárních dat o nádorovém onemocnění pacienta do komplexního genomového profilu (CGP) nádoru a jeho poskytnutí ve formě jasné strukturovaného a srozumitelného výsledku (reportu) ošetřujícímu lékaři, který tak bude mít k dispozici informace o stávajících možnostech cílené léčby a imunoterapie. Platforma Foundation Medicine pro komplexní genomové profilování byla v roce 2018 analyticky a klinicky validována FDA (Food and Drug Administration), včetně bioinformatické analýzy.<sup>8,9</sup>

Foundation Medicine aktuálně používá kombinaci technologie hybridního zachytu (hybrid capture) a sekvenování nové generace (NGS) pro:

- FoundationOne® CDx – komplexní genomové profilování na bázi tkáňové biopsie pro solidní nádory<sup>10</sup>
- FoundationOne® Liquid – komplexní genomové profilování na bázi tekuté biopsie pro solidní nádory<sup>11</sup>

čtyři hlavní třídy genomových změn – substituce bází, inserce nebo delece, alterace počtu kopií a genomové přeskupování, a to v rámci rozsáhlého souboru genů souvisejících s nádorovým onemocněním. Komplexní genomové profilování Foundation Medicine stanovuje zároveň nádorovou mutační nálož (TMB) a mikrosatelitovou nestabilitu (MSI).<sup>8,9</sup>

Tento jedinečný přístup může pacientům poskytnout více léčebných možností, protože propojuje zjištěné klinicky významné poškození nádorové DNA (genomové alterace) s příslušnými možnostmi cílené léčby, imunoterapie a s klinickými studiemi. To v klinické praxi umožní lékařům optimalizovat léčbu a farmaceutickým společností efektivněji vyvíjet cílenou onkologickou léčbu a imunoterapii.<sup>2,8</sup>

### Roche a umělá inteligence

Je paradoxem, že personalizovaná zdravotní péče je budována na základě analýzy velkého objemu dat z různých zdrojů. Jedinečnost nádoru totiž nejlépe poznáme na základě srovnání s jinými nádory jiných lidí. Zpracování a analýza genomových dat nádorů desítek tisíc pacientů tak umožňují lépe charakterizovat jedinečnost méně frekventovaných typů

nádorového onemocnění, zjistit klíčové genomové poškození a doporučit nejlepší léčbu.<sup>3,13,14</sup>

Propojením velkého množství dat z různých zdrojů vznikají tzv. big data.<sup>14</sup> Jedním z cílů v oblasti personalizované zdravotní péče je využití „big dat“ z různých zdrojů mimo klinické studie k analýze a prokázání účinnosti léčiv. Velké množství různých patientských dat je uloženo v různých databázích, nemocničních systémech, pojišťovnách a registrech. Tato data však nejsou propojena. Cílem v oblasti personalizované zdravotní péče, zvláště v onkologii, je propojit tyto různé typy dat z různých zdrojů.<sup>13,14</sup>

Příkladem takového úspěšného propojení je FLATIRON databáze, která sbírá strukturovaná diagnostická a klinická data společně s informacemi o nákladovosti léčby propojením nemocnic přes EMR systém. Tato databáze spolupracuje s farmaceutickými společnostmi, výzkumnými institucemi a FDA v oblasti analýzy „real world evidence“ pro efektivní vývoj a schvalování nových léčiv a diagnostických prostředků.<sup>15</sup>

Propojení dat mezi různými databázemi a jejich analýza umožňují objevit nové souvislosti a zákonitosti jak ve vzniku onemocnění, tak i při jejich časné diagnóze, prevenci a úspěšné léčbě.<sup>13,15</sup> Avšak to si vyžaduje sofistikované metody analýzy dat za pomoci umělé inteligence (neboli A.I. – artificial intelligence). Umělá inteligence je program, aplikace nebo přístroj, který se umí učit na dodaných příkladech (datech) a napodobuje tím lidskou inteligenci.<sup>16</sup>

Roche Foundation Medicine tedy ve zkratce využívá k analýze genomové DNA nádorů samoučící se umělou inteligenci. Například Foundation Insights je online platforma společnosti Foundation Medicine na bázi A.I., která analyzuje a také se neustále učí na nových datech databáze Foundation Core. Ta obsahuje více než



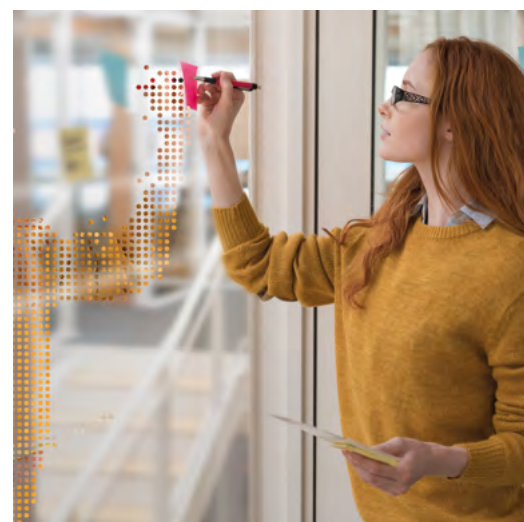
300 000 genomových profilů u více než 150 různých nádorů.<sup>17</sup> Učení umělé inteligence na velkém množství dat se nazývá „deep machine learning“. Typické každodenně používané aplikace „deep machine learning“ dnes zahrnují třeba rozpoznávání řeči ve smartphonech nebo rozpoznávání dopravních značek ve vozidlech.<sup>16</sup>

Další oblastí, v níž Roche využívá umělé inteligence a „deep machine learning“, je podpora lékařů při rozhodování prostřednictvím zpracování komplexních dat o pacientovi. S cílem podpořit a zjednodušit rozhodování pro klinické lékaře v komplexních systémech uvedla společnost Roche Diagnostics Information Solutions (DIS) novou firemní značku NAVIFY, představující software na podporu lékařů v jejich rozhodování u pacientů s rakovinou, a to na základě komplexních dat o pacientovi.<sup>18</sup>

Komplexnost personalizované zdravotní péče spočívá v tom, že každé individuální terapeutické rozhodnutí je založeno na datech z různých zdrojů, ať už se jedná o elektronický lékařský záznam, systém archívace zobrazení, patologii nebo

laboratorní systém, data sbíraná aplikací ve smartphonech, „-omics“ platformy všeho druhu nebo různé mezinárodní výzkumné databáze. Tento přístup otevírá klinickému lékaři možnost lepšího využití dat za účelem učinit správné terapeutické rozhodnutí ve správnou chvíli.<sup>18</sup>

Mnoho léků a léčebných postupů bylo vyvinuto s využitím přístupu „one size fits all“, založeného na charakteristikách a odpovědích velkých skupin lidí. Personalizovaná zdravotní péče nám nyní nabízí příležitost přizpůsobit léčbu onemocnění konkrétnímu pacientovi, a to zohledněním jeho genetické a biologické jedinečnosti, prostředí, ve kterém žije, a způsobu života. Přijetím individualizovaného přístupu ke zdraví a zdravotní péči – od screeningu přes diagnostiku až po léčbu a vyléčení – můžeme zlepšit výsledky a potenciálně snížit náklady zdravotnictví. V Roche věříme, že personalizovaná zdravotní péče v digitální éře bude přesahovat současné výhody individualizované terapie. Naším cílem je proniknout více do preventivní analýzy a monitorování pacientů dříve, než budou nemocní, a identifikovat, kdy a jak je potřebné a nejlepší zakročit.



Čtvrtá průmyslová revoluce s sebou přináší zvýšenou výpočetní kapacitu, sofistikované digitální informační platformy a velké množství genetických a biologických dat, která pohánějí personalizaci zdravotní péče vpřed. Záleží na vládě, regulačních autoritách, farmaceutických a IT společnostech, akademickém sektoru, odborných společnostech a patientských organizacích, do jaké míry budou spolupracovat, aby zajistili, že celá společnost bude mít prospěch z dnešního rychlého pokroku v oblasti technologií a personalizované zdravotní péče.<sup>2,3</sup>



#### MSc. Tekla Hornáková, Ph.D.

ROCHE s.r.o., Pharmaceutical Division

Kontakt: [tekla.hornakova@roche.com](mailto:tekla.hornakova@roche.com)

Po ukončení Ph.D. v oblasti farmaceutik a experimentální medicíny v Bruselu pracovala v Ludwig Institute for Cancer Research jako vědecký pracovník pro genomové profilování a translační medicínu hematologických malignit, následně v Ženevě jako vedoucí výzkumu a vývoje vakcín a v oblasti managementu klinických studií. Ve společnosti Roche pracuje od roku 2017. Jako PHC a Innovation Manager se specializuje na propojování nových produktů z portfolia Roche Pharmaceutical a Diagnostics Information Solution Division do inovativních pilotních projektů, které razí cestu personalizované péči nové generace v České republice. Volný čas tráví především s rodinou, čtením, pečením chleba, objevováním nových krajín a světa inovací.

## LITERATURA

- [https://www.mojemedicina.cz/cs\\_cz/phc/co-je-personalizovana-zdravotni-pece.html](https://www.mojemedicina.cz/cs_cz/phc/co-je-personalizovana-zdravotni-pece.html).
- [https://www.roche.com/about/priorities/personalised\\_healthcare.htm](https://www.roche.com/about/priorities/personalised_healthcare.htm).
- <https://weforum.ent.box.com/v/PrecisionMedicine-2017>.
- [https://www.mojemedicina.cz/cs\\_cz/phc/phc-genomika.html](https://www.mojemedicina.cz/cs_cz/phc/phc-genomika.html).
- <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>.
- <https://pct.mdanderson.org/>.
- <https://www.roche.com/media/releases/med-cor-2018-06-19.htm>.
- <https://www.foundationmedicine.com/genomic-testing>.
- [https://www.accessdata.fda.gov/cdrh\\_docs/pdf17/P170019C.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf17/P170019C.pdf).
- FoundationOne CDx Technical Specifications, <https://www.foundationmedicine.com/genomic-testing/foundation-one-cdx>.
- FoundationOne Liquid Technical Specifications, <https://www.foundationmedicine.com/genomic-testing/foundation-one-liquid>.
- FoundationOne Heme Technical Specifications, <https://www.foundationmedicine.com/genomic-testing/foundation-one-heme>.
- [https://www.roche.com/about/priorities/personalised\\_healthcare/combining-data-to-advance-personalised-healthcare.htm](https://www.roche.com/about/priorities/personalised_healthcare/combining-data-to-advance-personalised-healthcare.htm).
- <https://www.euapm.eu/big-data.html>.
- <https://flatiron.com/about-us/>.
- <http://www.vizex.cz/co-je-umela-inteligence-jasne-a-strucne-2-151>.
- <https://www.foundationmedicine.com/insights-and-trials/foundation-insights>.
- [Navify.com](https://www.navify.com)



Díky obrovskému pokroku v medicíně a molekulární biologii, zejména v oblasti sekvenování nukleových kyselin, se v posledních deseti letech stále častěji hovoří o přístupu personalizované zdravotní péče, tedy péče o pacienta jako o unikátní individuum s neopakovatelnou rodinnou historií, návyky a zlovyky, genotypem a fenotypem, fyziologií a metabolismem. Například cílená léčba nádorových onemocnění na základě molekulárního profilu DNA nádoru se dnes dostává do klinické praxe.

## Personalizovaná medicína: Realita, nebo fikce?

**RNDr. JAN BERKA, Ph.D.**

*Roche Sequencing Solutions, Pleasanton, USA*

Jaké však před námi stojí výzvy či překážky, abychom každý z nás měli svůj zcela soukromý a specifický profil uložený v chytrém telefonu a v případě potřeby léčby nebo zákroku by tyto údaje informovaly našeho lékaře o postupu, který bude pro nás nejúčinnější?

V první řadě je to nedostatečná znalost molekulární fyziologie a mechanismů mnoha onemocnění. Navzdory pokroku na tomto poli jsou velké studie za použití všech dostupných metod „-omics“, nejlépe na jednobuněčné úrovni, u velkého počtu pacientů a po dobu dostatečně dlouhou, abychom měli korelace se zdravím jednotlivce, nesmírně nákladné. Celonárodní studie tohoto rozsahu jsou možné pouze ve zdravotních systémech s univerzálním pojištěním a ideálně s jedním plátcem, jako je tomu například v UK. Možnou alternativu v této oblasti představují nové inovativní designy klinických studií jako např. typu Nof1, kde



si je kontrolou každý pacient sám sobě, nebo studie typu „umbrella“ a „basket“.

Další bariérou jsou historické metody přípravy vzorků v medicíně pro diagnostické účely. Většina metod používaných v patologii je 200 let starých a stále se vyučují na lékařských fakultách. Proto je důležité nejprve změnit systém vzdělávání lékařských profesionálů na univerzitách. Historické metody klasifikace nádorů, založené na systému TNM Staging, byly vyvinuty v letech 1942–1952, tedy dříve, než byla objevena struktura DNA. Dnes se učíme, že molekulární profily mnoha nádorů s touto klasifikací nesouhlasí.

V diagnostické praxi je také třeba změnit standardní postupy, jako například molekulární analýzy nádorové tkáně, které se provádějí z množství často 3 000–10 000krát menšího, než by bylo potřeba pro kompletní obraz o genomových alteracích v nádoru. Zbytek nádorové tkáně se v nemocnicích likviduje a nikdy se do diagnostické laboratoře nedostane.

A nakonec je tady bariéra analýzy obrovského množství dat. Postupy pro analýzu „Big Data“ vlastní Google, Facebook, Amazon a Microsoft, firmy, které navzdory snahám proniknout na pole biologie a medicíny nemají dostatečnou expertizu. Interdisciplinární přístup je tedy nezbytný.

Co je a bude výzvou, je GDPR (ochrana osobních údajů) a regulace sdílení zdravotních dat pacientů. Otázka, kdo zdravotní data „vlastní“. Otázka změny regulací a nová pravidla pro registraci a úhradu inovativních molekul.

No a úplně na konec, každá medicína, i ta personalizovaná, přece jenom začíná u každého z nás, jak pacientů, tak lékařů. Neměli bychom se o svoje zdraví víc zajímat, vzdělávat se z odborných zdrojů a nevěřit všemu, co najdeme na internetu? Kolik pacientů s diabetem by si zlepšilo krevní cukr, kdyby pravidelně cvičili? Kolik lékařů, i onkologů, stále kouří? A v lékařské ordinaci by paní doktorka nebo pan doktor měli mít víc času než jen pět minut, aby pacient odcházel s pochopením sděleného a jako skutečný partner přistupující aktivně ke svému vlastnímu zdraví.



### **RNDr. Jan Berka, Ph.D.**

Vedoucí skupiny Biomarker Technologies, Roche Sequencing Solutions Research and Early Development, Roche Molecular Systems 4300 Hacienda Drive, Building 729 Pleasanton, CA 94588, USA

Kontakt: jan.berka@roche.com

Ve svém bohaté profesní historii se věnoval vývoji DNA analytických metod, v dubnu 2000 se stal členem týmu a spoluvynálezcem několika klíčových složek Roche 454 Life Sciences DNA sekvenčního systému, včetně emulzní PCR. V roce 2006 se Jan zaměřil na aplikování 454 Next Generation Sequencing (NGS) k odhalení vzácných genetických variant způsobujících onemocnění člověka a patřil k prvním, kdo NGS aplikoval k profilování lidského imunitního systému. Dále zkoumal inovativní imunosekvenování a vyvinul novou metodu pro párování sekvencí imunitních receptorových řetězců. V roce 2014 nastoupil do společnosti Roche Sequencing Solutions Pleasanton, Kalifornie, kde od té doby provádí výzkum biomarkerů. V tomto roce se účastnil interního výměnného programu Roche Diagnostics, v jehož rámci působil po 3 měsíce v České republice.





Ve dnech 6.–7. března 2019 jsem se zúčastnila 11. ročníku světové konference IEEPO (International Experience Exchange with Patient Organisations), která se konala pod názvem Personalizovaná medicína: co to znamená a jaké přináší výzvy pro pacienty? Konference se zúčastnilo 199 pacientů a zástupců pacientů z 53 zemí celého světa.

## Personalizovaná medicína: co to znamená a jaké přináší výzvy pro pacienty?

EVA KNAPPOVÁ

*Ředitelka Aliance žen s rakovinou prsu*

V základním principu se jedná o změnu strategie přístupu z dnešního „medicína pro pacienty“ na „medicína s pacienty“. To je samozřejmě správné a přínosné především pro pacienty, ne vždy však pro ostatní účastníky procesu. Tato nová role pacienta je vyjádřena i v heslech „nic o nás bez nás“ nebo také „správná léčba ve správný čas“. Celá konference se soustředila na základní témata, a to jak formou panelů, tak velmi intenzivních workshopů. Personalizace medicíny a léčby přináší velké výzvy pro spolupráci s pacienty a dá se vyjádřit schématem „think tank stolu“: pacient (uprostřed stolu), lékař, poskytovatelé zdravotnických služeb, plátcí (zdravotní pojišťovny), „stakeholdři“, obhájci práv pacientů a farmaceutický průmysl (okolo něj). Spolupráce všech těchto klíčových hráčů přináší pacientovi **ŽIVOT, NADĚJI, KVALITU PÉČE!**

Všichni delegáti po diskusi dospěli k závěru, že základem je rozhovor lékaře s pacientem o tom, co je personalizace

medicíny. To znamená naprosto jasné vysvětlení poměru snížení obecnosti léčby na straně jedné a přínosu praktických benefitů personalizace léčby na straně druhé. A to vše díky lepší diagnostice i léčbě zaměřené na maximální využívání nástrojů důležitých k dosažení cíle, jako je sběr dat, jejich digitalizace a sdílení. Sběr dat si pokládá několik zásadních otázek: Kdy, co a jak? Smysluplná a vysoká úroveň sběru dat a jejich využití je klíčem nejen k dobré diagnostice a navržení léčby, ale také může díky výsledkům monitoringu léčby přinést odpovědi lékařům onkologům i dalším specialistům na to, zda je léčba efektivní nebo kdy ji v případě neefektivnosti včas zastavit. V současné době jsou obecně k dispozici data z klinických studií (cca 4 %), zbylých 96 % zůstává jako výsledky z praxe bohužel tzv. na papíře. U těchto dat hrozí nebezpečí, že se časem ztratí. Průběžný a následně digitalizovaný sběr dat s sebou nese následující postupy: sběr, digitalizace, sumarizace, analýza, výstupy. Nicméně stále nejsou

dostatečně zodpovězeny otázky, které tento proces přináší: Jaká relevantní data sbírat, jak je sbírat, kolik, jak je organizovat a pracovat s nimi? Stejně tak jsou podstatné otázky doprovázející vzájemné poskytování zjištěných dat majících zásadní dopad na zlepšení kvality léčby.

Neméně důležitý je rovněž pohled pacientů na navrhované inovace léčby. Ten byl také jedním ze zásadních bodů a cílů konference. Jako účastníci z celého světa jsme byli schopni se shodnout na základním názoru a otázkách ze strany pacienta: Proč mám svoje data poskytovat? Celkem 83 % všech účastníků souhlasilo s poskytováním a využíváním dat.

Z naší diskuse ale také vyplynuly následující otázky: Co se bude s daty dít, jak budou používána, kde budou shromažďována a uchovávána, co se z nich vyčte, kdo bude mít copyright, bude prováděn sběr opravdu jen smysluplných a využitelných dat nejen pro medicínské účely, ale i pro zlepšení kvality života, je naplánována zpětná vazba výsledků sběru dat zpět k pacientům? Společný závěr z této velmi intenzivní a pracovně nabitě konference je následující: **Spolupráce a vzájemná důvěra při využívání výše zmiňovaných procesů mohou přinést pacientům především benefity nejen v léčbě, ale i v kvalitě života s nemocí, a je tedy záhodno personalizaci medicíny ze strany pacientů podporovat.**

Věříme, že naše otázky budou co nejdříve zodpovězeny tak, aby personalizace medicíny dostala zelenou.



**Eva Knappová**

Havlíčkovu náměstí 746/11, Praha 3, <https://www.breastcancer.cz>

Kontakt: [evaknapp@breastcancer.cz](mailto:evaknapp@breastcancer.cz)

Ředitelka Aliance žen s rakovinou prsu.

Aliance žen s rakovinou prsu, o.p.s., byla založena devatenácti organizacemi onkologických patientek jako zastřešující celostátní obecně prospěšná společnost.



Illumina či „Black box“? Člověku hned v hlavě naskočí asociace s kouzly či kouzelníky. A když si poslechnete zasvěcený výklad o genomovém testování nádorové DNA z úst odbornice laboratoří Foundation Medicine, je vám jasné, že kouzla a čáry to sice nejsou, ale „normálnímu“ člověku zůstává rozum stát nad tím, co všechno dnešní věda dokáže.

## Hlas onkologických pacientů byl slyšet v německém Penzbergu

**Mgr. PETRA ADÁMKOVÁ**

ředitelka ONKO Unie, o.p.s.

Zástupkyně patientských organizací Aliance žen s rakovinou prsu, České ILCO, LYMFOM HELP, ONKO-AMAZON-KY, ONKO Unie a Průvodce pacienta se 20. a 21. 5. 2019 zúčastnily exkurze do laboratoří společnosti Foundation Medicine v německém Penzbergu. A jak tedy genomové testování nádorové DNA vypadá v praxi? Pro mne je to stejná záhada jako vzletnutí letadla či teorie relativity!



Kdekoli na světě odeberete tkáňovou biopsii z nádoru a pošlete ve speciální krabičce kurýrem do laboratoře Foundation Medicine. Pak už se nestaráte, počkáte cca 14 dnů a zpět dorazí výsledek společně s fakturou.

A podrobnější recept Foundation Medicine aneb Když chci vědět víc?

*Od června 2018 je Foundation Medicine ve 100% vlastnictví firmy Roche. (více na [www.foundationmedicine.com](http://www.foundationmedicine.com))*

Z nádorových buněk selektovat DNA pomocí magnetických mikrokuliček, šroubovici DNA, která není skoro viditelná ani pod elektronovým mikroskopem, „nakrájet“ na kousky o 200 párech bází, přičemž je nutné každý kousek označit zvláštním kódem jednotlivého pacienta. Do minizkumavky v malé destičce určené pro lepší čtení „nalít 40 pacientů“ (rozuměj do speciálního roztoku počítačem přenést kódem označené kousky DNA 40 pacientů), vložit do přístroje zvaného Illumina a nechat 12 hodin „kynout“ (resp. nechat počítač pracovat). Data nechat až 500x přečíst, převést do počítače, kterému se podle jeho barvy říká Black box, a nechat číst dalších 6 hodin. Výsledek pak už na sebe nenechá dlouho čekat. Zde se však dostává ke slovu také člověk! Ten zkontroluje mnohastránkovou zprávu, ve které počítač popíše nejen mutace a jiné typy poškození nádorových genů poslaného vzorku, ale i existující léčbu, popř. najde klinické studie a odborné

publikace o léčích, které cílí na přečtené mutace a jiné poškození pacientovy nádorové DNA. Zní to jednoduše, vypadá složitě a pro laika je to neuvěřitelné jako všechna další testování lidského genomu.

Možnosti současné medicíny se každým dnem posouvají dál a dál. V onkologii je už možné nejen léčit onemocnění



podle lokalizace nádoru (rakovina plic, prsu, žaludku...), ale používat cílenou léčbu na míru jedinečným poškozením nádorových buněk každého jednotlivce. Dokážeme již přečíst „knihu“ našeho genomu, známe „stránky“, na kterých jsou zapsané nejpodivnější mutace a jiné poškození našich genů, a nastává doba, kdy některé konkrétní genomové změny vedoucí ke vzniku a rozvoji nádorového onemocnění dokážeme cíleně léčit.

Z Penzbergu jsme si mimo jiné odnesli víru ve vědecký pokrok a inovativní technologie, které přinášejí naději pro všechny pacientky i pacienty: Když totiž víte, CO léčit a napravovat, k tomu JAK zbývá často už jen krok.

Díky všem, kteří posouvají medicínu dál!



### **Mgr. Petra Adámková**

ONKO Unie, o.p.s., Naardenská 668/19, Praha 6 – Liboc, <http://www.onko-unie.cz>

Kontakt: [petra.adamkova@onko-unie.cz](mailto:petra.adamkova@onko-unie.cz)

Ředitelkou ONKO Unie, o.p.s., je od listopadu 2015. Vystudovala FF UK a od roku 1998 se věnuje oblasti public relations. Podílela se na edukativních a osvětových kampaních ve zdravotnictví a současně spolupracuje s neziskovou organizací Alfa Human Service, z.s., která se věnuje podpoře pečujících osob.



# Screening preeklampsie v I. trimestru těhotenství

prof. MUDr. MAREK LUBUŠKÝ, Ph.D., MHA,<sup>1</sup> Mgr. LUCIE ROUBALOVÁ<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Porodnicko-gynekologická klinika, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci, Fakultní nemocnice Olomouc, <sup>2</sup> Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Olomouc

## Predikce preeklampsie

**Kombinovaný screening v I. trimestru těhotenství (v 11.–13. týdnu)** by ve své optimální podobě měl být zaměřený na predikci a vyhledávání nejčastějších závažných porodnických komplikací, mezi které patří především velké porodnické syndromy (preeklampsie, růstová restrikce plodu, předčasný porod, nitroděložní úmrtí plodu) a vrozené vady plodu.<sup>1,2</sup>

Incidence uvedených porodnických komplikací je následující: preeklampsie (cca 1–5 %), růstová restrikce plodu (cca 5–10 %), předčasný porod (cca 8 %), úmrtí plodu v děloze (cca 0,5 %) a vrozené vady plodu (cca 2–3 %).<sup>3,4,5</sup>

Preferován by měl být komplexní screening **nejen nejčastějších vrozených vad plodu** (morfologických a chromosomálních), **ale i těhotenství s rizikem rozvoje preeklampsie a růstové restrikce plodu**, protože u žen se zvýšeným rizikem je možná **účinná prevence** rozvoje závažných forem onemocnění **včasným zahájením léčby kyselinou acetylsalicylovou**.<sup>6</sup>

## Etiologie a patogeneze preeklampsie

Preeklampsie (Preeclampsia, PE) je závažné multiorgánové onemocnění komplikující těhotenství, které je charakterizováno placentární a kardiovaskulární dysfunkcí. Je celosvětově hlavní příčinou mateřské a perinatální mortality a morbidity. Odhaduje se, že následkem PE zemře každoročně více než 50 000 žen.<sup>7</sup>

Při placentární a kardiovaskulární dysfunkci je snížený přísun krve do placenty, což způsobuje hypoxii s možnou patologickou aktivací endotelu. U plodu může

dojít k rozvoji růstové restrikce (Fetal Growth Restriction, FGR), event. k nitroděložnímu úmrtí a u těhotné ženy hrozí rozvoj multiorgánového postižení. V nejzávažnějších případech vyžaduje stav těhotné ženy a/nebo plodu iatrogenní předčasný porod, protože jediným kauzálním řešením patologického stavu je odstranění placenty. PE/FGR však neohrožuje ženu/plod pouze v těhotenství, ale významně zvyšuje riziko závažných kardiovaskulárních onemocnění v dalším životě.<sup>8,9,10</sup>

Existuje mnoho důkazů, že PE není jedno onemocnění, ale zahrnuje dvě fenotypově odlišné jednotky. Označení jednotlivých typů představuje problém. Nejčastěji bývá uvedeno rozdělení na časnou PE (Early-PE) do 34. gestačního týdne a pozdní PE (Late-PE) od 34. týdne. Některé publikace však rozlišují časnou a pozdní PE do 32., resp. od 32. gestačního týdne. Mimo to se v celé řadě studií uvádí i termíny PE před termínem (< 37. týden) a PE v termínu (≥ 37. týden). Rovněž není vždy jednoznačné, zda je typ PE určen dle dne stanovení diagnózy nebo dle dne porodu.<sup>11,12</sup>

Přestože terminologie není jednotná, všechny publikace se shodují na tom, že patofyziologie těchto dvou stavů je odlišná, i když se mohou překrývat. Časná PE se rozvíjí jako důsledek především abnormální placentace a placentární dysfunkce, zatímco pozdní PE vzniká převážně následkem kardiovaskulární dysfunkce těhotné ženy. Tato klasifikace má i prognostickou hodnotu, protože časná PE s sebou nese výrazně vyšší riziko komplikací jak pro těhotnou ženu, tak i pro plod. Tím, že patofyziologie pozdní PE převážně nesouvisí s placentou, je spojena s nižší mírou postižení plodu a příznivějšími perinatálními výsledky.<sup>13,14,15,16</sup>

## Predikce preeklampsie

Jednotná metodika predikce PE při provádění kombinovaného screeningu v I. trimestru těhotenství není v České



republiky (ČR) definována žádnou z institucí, které zodpovídají za organizaci péče o těhotnou ženu. V ČR neexistuje národní screeningový program PE (Ministerstvo zdravotnictví ČR, MZ ČR) ani doporučení odborné společnosti (Česká gynekologická a porodnická společnost České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně, ČGOPS ČLS JEP).

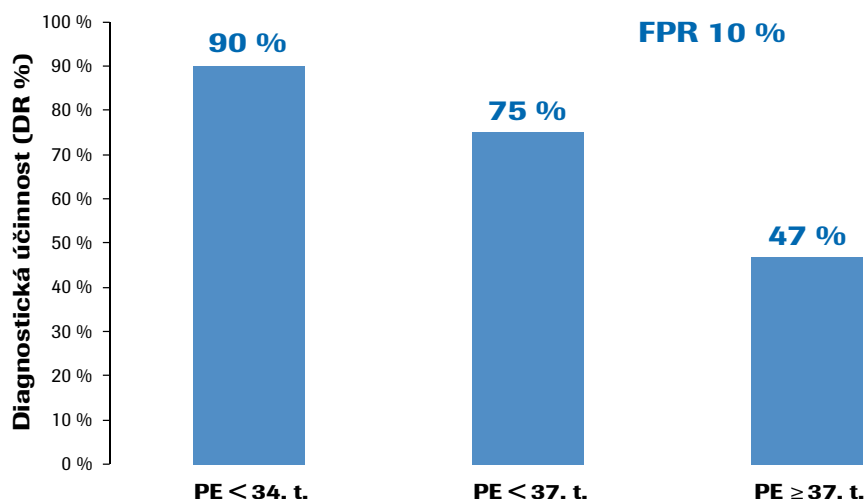
V jiných zemích, pokud doporučení existuje, je riziko PE hodnoceno na základě maternálních charakteristik a anamnestických rizikových faktorů.<sup>17,18</sup> Dle výsledků studie SPREE je však diagnostická účinnost takto provedeného screeningu velmi nízká. Při 10% falešné pozitivitě byla diagnostická účinnost PE před termínem 40 % a pro PE v termínu pouze 26 %.<sup>19</sup>

Jediná, v mnoha studiích validovaná metodika pro provádění screeningu PE s dostatečnou diagnostickou účinností je dána The Fetal Medicine Foundation (FMF). K výpočtu rizika je využíván Bayesův teorém, který je založen na kombinování řady parametrů. Hodnoty jsou převáděny na násobky mediánu a vzájemnou kombinaci všech parametrů je kalkulováno individuální riziko pro těhotnou ženu a daný gestační věk. Podmínkou pro provedení je mít k dispozici validovaný software (SW), který je schopen kombinovat všechny požadované parametry a tímto způsobem riziko spočítat.<sup>20</sup>

### Základní parametry podle metodiky FMF

Jak bylo uvedeno, účinnost takto provedeného screeningu byla validovaná v mnoha studiích. První validační studie O'Gorman a kol. z roku 2016 ukázala, že při 10% falešné pozitivitě byla diagnostická účinnost časně PE 90 %, PE před termínem 75 % a PE v termínu 47 %.<sup>21</sup> (Obr. 1)

Tan a kol. analyzovali výsledky 61 174 screeningů jednočetných těhotenství



▲ Obr. 1: Účinnost kombinovaného screeningu preeklampsie (PE) v I. trimestru těhotenství dle algoritmu The Fetal Medicine Foundation (FMF).

Časná PE (< 34. gestační týden), PE před termínem (< 37. gestační týden) a PE v termínu (≥ 37. gestační týden); FPR – false positivity rate (falešná pozitivita).

Upraveno dle O'Gorman N et al. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal factors and biomarkers at 11-13 weeks gestation. Am J Obstet Gynecol. 2016 Jan; 214(1): 103.e1-103.e12.

provedených v 11. až 13. gestačním týdnu a stanovili diagnostickou účinnost pro kombinace jednotlivých parametrů. Z výsledků jednoznačně vyplynulo, že pro predikci vzniku PE před termínem je nejúčinnější kombinace maternálních parametrů (maternální charakteristiky a anamnestické rizikové faktory) a biofyzikálních (pulzatilní index v děložních tepnách) a biochemických parametrů (sérová hodnota placentárního růstového faktoru). Hodnoty PAPP-A účinnost screeningu nijak nezvýšily, ale přesto se do výpočtu rizika započítávají.<sup>22</sup> (Tab. 1)

Mezi maternální parametry patří: věk, výška, váha, rasa, chronická hypertenze, systémový lupus erythematosus a antifosfolipidový syndrom, in vitro fertilizace, PE v rodinné anamnéze, diabetes mellitus, počet předchozích porodů bez PE a s PE. (Tab. 2)

Biofyzikální parametry jsou: hodnota středního arteriálního tlaku u těhotné ženy (Mean Arterial Pressure, MAP) a hodnota pulzatilního indexu v děložních tepnách při dopplerovském

ultrazvukovém vyšetření (Uterine artery Pulsatility Index, UtA-PI).

Mezi biochemické parametry, které se započítávají do výsledného rizika, řadíme sérovou hodnotu placentárního růstového faktoru (Placental Growth Factor, PlGF) a s těhotenstvím asociovaného plazmatického proteinu A (Pregnancy Associated Plasma Protein-A, PAPP-A).

Vzhledem k nedostatečné standardizaci jednotlivých parametrů existují významné rozdíly mezi naměřenými hodnotami v závislosti na zvoleném systému. Používaný SW by měl být schopen přepočítat absolutní hodnoty na násobky mediánu v závislosti na použitém měřicím systému. Nejčastěji jsou používány systémy Roche, ThermoFisher a Perkin Elmer.

V ČR je publikováno společné doporučení odborných společností (Česká společnost klinické biochemie – ČSKB ČLS JEP, Společnost lékařské genetiky a genomiky – SLG ČLS JEP) definující základní analytické požadavky na biochemické parametry screeningu.<sup>23</sup>





| Predikce preeklampsie před termínem (< 37. týden) |                                      |
|---------------------------------------------------|--------------------------------------|
| Parametry pro výpočet rizika                      | Diagnostická účinnost screeningu (%) |
| Maternální parametry                              | 45                                   |
| + MAP                                             | 51                                   |
| + MAP, PAPP-A                                     | 56                                   |
| + MAP, <b>UtA-PI</b>                              | 68                                   |
| + MAP, UtA-PI, PAPP-A                             | 68                                   |
| + MAP, <b>PIGF</b>                                | 66                                   |
| + MAP, <b>UtA-PI, PIGF</b>                        | <b>75</b>                            |
| + MAP, UtA-PI, PIGF, PAPP-A                       | 75                                   |

▲ Tab. 1: Účinnost kombinovaného screeningu preeklampsie (PE) v I. trimestru těhotenství při hodnocení jednotlivých parametrů.

MAP – Middle Arterial Pressure (střední arteriální tlak); PAPP-A – Pregnancy Associated Plasma Protein-A (s těhotenstvím asociovaný plazmatický protein-A); UtA-PI – Uterine Artery Pulsatility Index (pulzatilní index v děložní tepně); PIGF – Placental Growth Factor (placentární růstový faktor).

Upraveno dle: O'Gorman N. et al. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal factors and biomarkers at 11-13 weeks gestation. *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Jan;214(1):103.e1-130.e12.

### Optimální hodnota cut-off

Při výběru optimální cut-off hodnoty individuálního rizika pro rozvoj PE, která identifikuje „těhotenství se zvýšeným rizikem rozvoje PE“, je nutné zamyslet se nad vstupními rizikovými faktory, které tuto hodnotu ovlivňují. U screeningu PE se ocitáme ve zcela stejné situaci jako u rizika Downova syndromu. I tady nelze použít individuální hodnotu cut-off, ale hodnota musí být stanovena s ohledem na nejrizikovější faktor a tím je v případě Downova syndromu věk těhotné ženy. Riziko vzniku PE ovlivňuje celá řada parametrů a není možné používat hodnoty cut-off v závislosti na jednotlivých parametrech. Optimální hodnota cut-off pro multietnickou populaci byla stanovena na 1 : 100.<sup>22</sup> Nicméně v závislosti na rase může být falešná pozitivita významně vyšší než 10 %. U screeningu Downova syndromu se snažíme falešnou pozitivitu co nejvíce snižovat, protože následně indikované invazivní výkony jsou spojeny s rizikem spontánního potratu zdravého plodu. V případě těhotenství se zvýšeným rizikem rozvoje PE je těhotné ženě nabídnuta léčba kyselinou acetylsalicylovou, která nemá žádné závažné nežádoucí

účinky na těhotnou ženu nebo plod, a zvýšená falešná pozitivita screeningu je tudíž akceptovatelná.<sup>24</sup>

### Prevence preeklampsie

Prevence velkých porodnických syndromů způsobených poruchou placentace je složitá. Je známo, že odpočinek v posteli a různé dietní manipulace riziko vzniku nesnižují. Účinné je podávání vápníku u populace žen s jeho nízkým příjmem, čímž se riziko PE může snížit až na polovinu. Odpočinek na lůžku, omezení příjmu soli a suplementace různými vitaminy však účinné nejsou. V mnoha studiích bylo prokázáno, že podávání nízkých dávek kyseliny acetylsalicylové v těhotenství významným způsobem snižuje výskyt PE.<sup>24,25</sup>

### Mechanismus účinku kyseliny acetylsalicylové (Aspirin, Anopyrin)

Kyselina acetylsalicylová ireverzibilně (nevratně) inaktivuje enzym cyklooxygenázu (COX), který je v organismu odpovědný za syntézu prostaglandinů a tromboxanů z kyseliny arachidonové. Díky

| Maternální parametry              |
|-----------------------------------|
| Věk                               |
| Výška                             |
| Váha                              |
| Rasa                              |
| Chronická hypertenze              |
| SLE + APS                         |
| IVF                               |
| PE v rodinné anamnéze             |
| Diabetes mellitus                 |
| Počet předchozích porodů bez/s PE |

▲ Tab. 2: Maternální parametry při kombinovaném screeningu preeklampsie (PE) v I. trimestru těhotenství dle algoritmu The Fetal Medicine Foundation (FMF).

Systémový lupus erythematosus (SLE), antifosfolipidový syndrom (APS), in vitro fertilizace (IVF).

tomu má výrazné protizánětlivé a antitrombotické účinky. Pro prevenci placentární insuficience je nejdůležitějším mechanismem selektivní inhibice syntézy tromboxanu bez ovlivnění syntézy prostacyklinu. Tím se snižuje riziko zvýšené vazokonstrikce cév, agregace krevních destiček a tvorby trombů v placentě. Kromě toho zlepšuje nedostatečnou trofoblastickou invazi produkcí specifických cytokinů, snížením apoptózy a změnou buněčné agregace a fúze. V hypoxických podmínkách vykazuje i proangiogenní účinky tím, že inhibuje expresi sFlt-1 v lidských trofoblastech.<sup>26</sup> Podávání antitrombotických léků založených na jiném principu (např. léky z řady nízkomolekulárních heparinů) nemá na prevenci placentárních onemocnění žádný vliv.

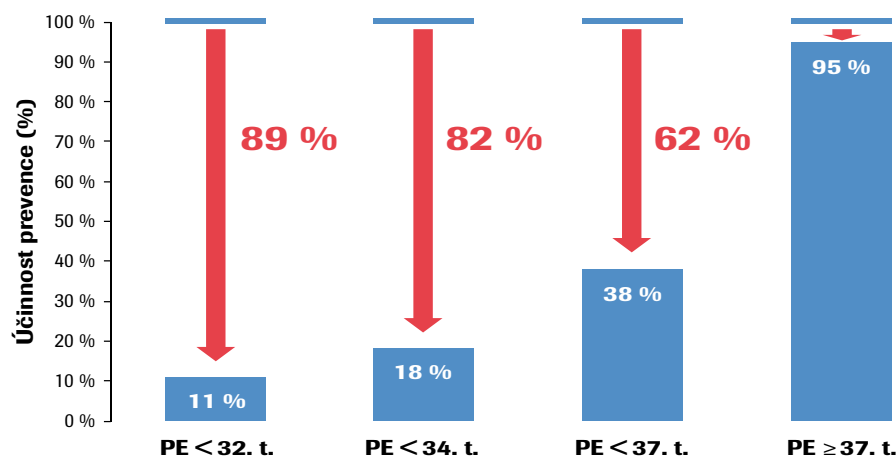
### Studie ASPRE

Účinek Aspirinu byl validován v mezinárodní multicentrické studii ASPRE (Combined Multimarker Screening and Randomized Patient Treatment with Aspirin for Evidence-Based Preeclampsia Prevention). Těhotným ženám v této studii byl proveden kombinovaný



screening v 11.–13. týdnu těhotenství a dle metodiky FMF byla identifikována skupina žen se zvýšeným rizikem rozvoje PE. Těmto ženám byl podáván Aspirin v dávce 150 mg perorálně jedenkrát denně večer. Léčba byla zahájena v cca 12. týdnu, vždy však před 16. týdnem. Jak již bylo uvedeno, Aspirin pomáhá při zlepšování procesu placentace. Pokud je vývoj placenty dokončen v 16. týdnu, měla by léčba začít v době, kdy proces placentace probíhá, nikoli po jeho ukončení. Z tohoto důvodu je stanovení rizika rozvoje PE po 16. týdnu (např. v rámci screeningu vrozených vad plodu ve II. trimestru) zavádějící, protože účinnost preventivního podávání Aspirinu po 16. týdnu je nízká. Léčba byla ukončena před 36. týdnem z důvodů obav, že by Aspirin mohl způsobit krvácení do mozku nebo jiné hemoragické poruchy u plodu a novorozence.<sup>27,28</sup>

Aspirin podávaný od 12. do 36. týdne snížil výskyt PE před termínem o 62 %, časné PE před 34. týdnem o 82 % a PE před 32. týdnem téměř o 90 %. Dle očekávání nemělo podávání Aspirinu významný vliv na výskyt pozdní PE. Naopak největší účinek má Aspirin na rozvoj časné PE a téměř eliminuje její nejzávažnější formy



▲ **Obr. 2: Účinnost preventivního podávání Aspirinu na jednotlivé typy preeklampsie (PE).** Závažné formy časné PE (< 32. gestační týden), časná PE (< 34. gestační týden), PE před termínem (< 37. gestační týden) a PE v termínu (≥ 37. gestační týden). Upraveno dle Rolnik DL et al. Aspirin versus placebo in pregnancies at high risk for preterm preeclampsia. *N Engl J Med* 2017 AUg 17;377(7):613-622.

(HELLP syndrom a formy rozvíjející se před 32. týdnem).<sup>27</sup> (Obr. 2)

## Závěr

Preeklampsie představuje závažnou porodnickou komplikaci, jejíž jedinou účinnou léčbou je ukončení těhotenství, v mnoha případech iatrogenním předčasným porodem. Výsledky studie ASPRE jednoznačně prokázaly účinek podávání nízkých dávek

kyseliny acetylsalicylové na prevenci rozvoje časné PE a jejich nejzávažnějších forem. Predikce PE v rámci kombinovaného screeningu v I. trimestru těhotenství (v 11.–13. týdnu) umožní identifikovat rizikové skupiny těhotných žen, které by mohly profitovat z profylaktického podávání kyseliny acetylsalicylové. Největší diagnostickou účinnost vykazuje screening provedený dle metodiky FMF, založený na kombinaci materských, biofyzikálních a biochemických parametrů.



**prof. MUDr. Marek Lubušský, Ph.D., MHA**

Kontakt: [www.lubusky.com](http://www.lubusky.com)

CENTRUM FETÁLNÍ MEDICÍNY, Porodnicko-gynekologická klinika, Univerzita Palackého v Olomouci, Lékařská fakulta, Fakultní nemocnice Olomouc, I. P. Pavlova 6, 77520 Olomouc, tel.: +420 585 852 785, mobil: +420 606 220 644.

## LITERATURA

1. The Fetal Medicine Foundation; [www.fetal-medicine.com](http://www.fetal-medicine.com)
2. Brosens I, Pijnenborg R, Vercruyse L, Romero R. The "Great Obstetrical Syndromes" are associated with disorders of deep placentation. *Am J Obstet Gynecol.* 2011; Mar; 204(3): 193-201.
3. Figueras F, Gratacos E, Rial M, Gull I, Krofta L, Lubusky M, Rogelio CM, Mónica CL, Miguel MR, Socías P, Aleuallli C, Cordero MCP. Revealed versus concealed criteria for placental insufficiency in an unselected obstetric population in late pregnancy (RATIO37): randomized controlled trial study protocol. *BMJ Open.* 2017, Jun 15; 7(6).
4. Vlk R, Procházka M, Měchurová A, Šimětka O, Janků P. Preeklampsie – od patofyziologie ke klinické praxi, 1. vyd. Praha: Maxdof; 2015. ISBN 978-80-7345-460-9.
5. A transcript of Professor Kypros Nicolaides's webcast, broadcast on April 24th 2018, First Trimester Prediction and Prevention of Pre-term Pre-eclampsia.
6. Doporučený postup ČGPS ČLS JEP č.1/2019 sb.: Zásady dispenzární péče v těhotenství, <http://www.gynultrazvuk.cz/data/clanky/6/dokumenty/2019-01-zasady-dispenzarni-pece-v-tehotenstvi-dp-cgps-cls-jep-revize.pdf>
7. Högborg U. The World Health Report 2005: "make every mother and child count"



- including Africans. *Scand J Public Health*. 2005; 33(6): 409-11.
8. Thilaganathan B. Placental syndromes: getting to the heart of the matter. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017 Jan; 49(1): 7-9.
  9. Duhig K, Vandermolen B, Shennan A. Recent advances in the diagnosis and management of pre-eclampsia. *F1000Res*. 2018 Feb 28; 7:242.
  10. Magee LA, Pels A, Helewa M, Rey E, von Dadelszen P; Canadian Hypertensive Disorders of Pregnancy (HDP) Working Group. Diagnosis, evaluation, and management of the hypertensive disorders of pregnancy. *Pregnancy Hypertens*. 2014 Apr; 4(2): 105-45.
  11. Von Dadelszen P, Magee LA, Roberts JM. Subclassification of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2003; 22: 143-148.
  12. Valensise H, Vasapollo B, Gagliardi G, Novelli GP. Early and late preeclampsia: two different maternal hemodynamic states in the latent phase of the disease. *Hypertension*. 2008, Nov; 52(5): 873-80.
  13. Verlohren S. Author's reply re: Pre-eclampsia is primarily a placental disorder: FOR: Pre-eclampsia is primarily a placental disorder. *BJOG*. 2018 Mar; 125(4): 513-514.
  14. Thilaganathan B. Author's reply re: Pre-eclampsia is primarily a placental disorder: AGAINST: Pre-eclampsia: the heart matters. *BJOG*. 2018 Mar; 125(4): 512-513.
  15. Melchiorre K, Wormald B, Leslie K, Bhide A, Thilaganathan B. First-trimester uterine artery doppler indices interm and preterm pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008, 32: 133-137.
  16. Raymond D, Peterson E. A critical review of early-onset and late-onset preeclampsia. *Obstet Gynecol Surv*. 2011, 66: 497-506.
  17. Excellence. NfHaC. CG107 NICE Guideline: Hypertension in Pregnancy. 2012.
  18. ACOG Practice Bulletin No. 202: Gestational Hypertension and Preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 2019 Jan; 133(1):e1-e25.
  19. Tan MY et al. Comparison of diagnostic accuracy of early screening for pre-eclampsia by NICE guidelines and a method combining maternal factors and biomarkers: results of SPREE. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018 Jun; 51(6): 743-750.
  20. Wright D, Akolekar R, Syngelaki A, Poon LC, Nicolaides KH. A competing risks model in early screening for preeclampsia. *Fetal Diagn Ther*. 2012; 32(3): 171-8.
  21. O'Gorman N et al. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal factors and biomarkers at 11-13 weeks gestation. *Am J Obstet Gynecol*. 2016 Jan; 214(1): 103.e1-103.e12.
  22. Tan MY et al. Screening for pre-eclampsia by maternal factors and biomarkers at 11-13 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018 Aug; 52(2): 186-195.
  23. Společný doporučený postup ČSKB ČLS JEP a SLG ČLS JEP: Doporučení o laboratorním screeningu vrozených vývojových vad v prvním a druhém trimestru těhotenství. <http://www.cskb.cz/res/file/doporuzeni/2018/doporuzeni-7-5-2018-vidiSLG.pdf>
  24. A transcript of Professor Kypros Nicolaides's webcast: First Trimester Prediction and Prevention of Pre-term Pre-eclampsia, broadcast on April 24th 2018.
  25. Hofmeyr GJ, Lawrie TA, Atallah AN, Duley L, Torloni MR. Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems. *Cochrane Database Syst Rev* 2014; 6: CD001059.
  26. Vane JR, Botting RM. The mechanism of action of aspirin. *Thromb Res*. 2003 Jun 15; 110(5-6): 255-8.
  27. Rolnik DL et al. Aspirin versus placebo in pregnancies at high risk for preterm preeclampsia. *N Engl J Med*. 2017 Aug 17;377(7):613-62.
  28. Bujold E, Roberge S, Nicolaides KH. Low-dose aspirin for prevention of adverse outcomes related to abnormal placentation. *Prenat Diagn* 2014; 34: 642-8.



Nadace fetální medicíny (The Fetal Medicine Foundation) je registrovaná charita, jejímž cílem je zlepšit zdraví těhotných žen a jejich dětí prostřednictvím výzkumu a školení v oboru fetální medicíny.

Nadace s podporou mezinárodní skupiny odborníků zavedla vzdělávací program pro zdravotnické pracovníky i rodiče a řadu osvědčení o způsobilosti v různých aspektech fetální medicíny.

Více na <https://fetalmedicine.org/>



FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) je profesionální organizace, která sdružuje porodnická a gynekologická sdružení z celého světa.

FIGO je oficiálním partnerem Světové zdravotnické organizace (World Health Organization, WHO) a Organizace spojených národů (United Nations, UN).

Více na <https://www.figo.org/>



# Screening preeklampsie v 1. trimestru těhotenství

- umožňuje časnou identifikaci vysoce rizikových pacientek
- není náhradní alternativou k testování poměru sFlt-1/PIGF ve 2. a 3. trimestru těhotenství v případě podezření na preeklampsii po 20. (+0) týdnu těhotenství<sup>5</sup>

## Screening PE v 1. trimestru

- lze provádět u všech těhotných
- vzorek séra v 10.–14. týdnu těhotenství<sup>1–4</sup>
- výpočet podle FMF algoritmu<sup>6</sup> (Fetal Medicine Foundation) pro stanovení rizika PE, který zahrnuje:
  - faktory matky (věk, anamnéza atd.)
  - střední arteriální tlak
  - uterinní pulzatilní index (UtPI, Doppler)
  - biomarker: PIGF, možno přidat PAPP-A

Vysoké riziko  
( $<1 : 100$ )

Nasadit Aspirin (150 mg/den) a podávat do 36. týdne těhotenství, léčbu zahájit nejpozději ve 14. týdnu.

Návazně monitorovat od 20. (+0) týdne:<sup>1</sup> tzn. určit výchozí hodnotu poměru sFlt-1/PIGF a sledovat jeho vývoj v dalším průběhu těhotenství (možnost krátkodobé predikce na základě hodnoty poměru sFlt-1/PIGF).

Nízké  
riziko

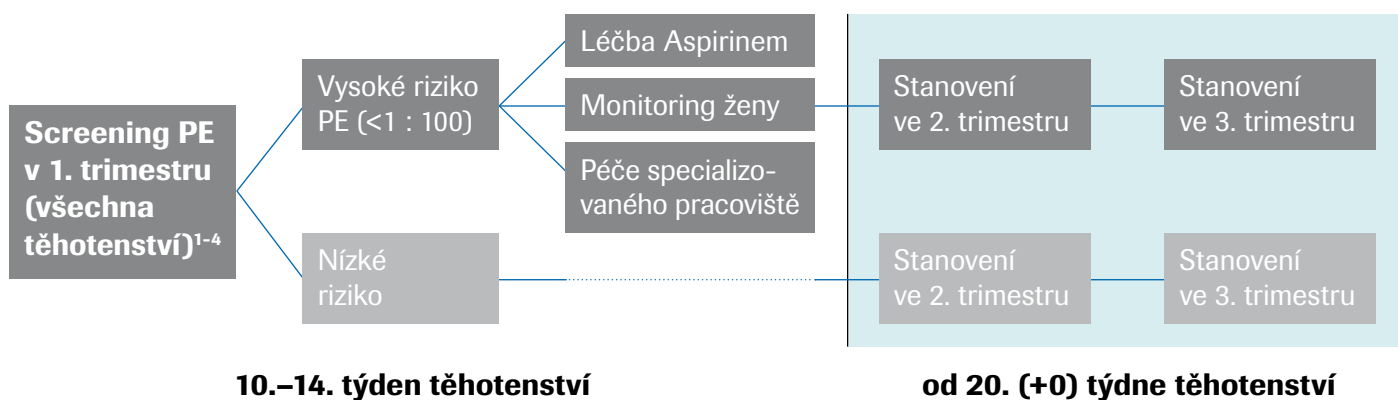
Bez léčby Aspirinem

V případě podezření a/nebo při klinických příznacích PE, které se objeví od 20. (+0) týdne, monitorovat poměr sFlt-1/PIGF.<sup>5</sup>

**Hodnota poměru sFlt-1/PIGF** ve 2. a 3. trimestru je užitečnou pomůckou pro diagnostiku a krátkodobou predikci PE, která je **nezávislá na výsledcích screeningu v 1. trimestru** a může být aplikována kdykoliv při podezření na preeklampsii.<sup>5</sup>

### Hodnoty PIGF jako součást FMF algoritmu

### Poměr sFlt-1/PIGF<sup>5</sup>



#### Literatura

1. Rolnik et al. (2017). *N Engl J Med.* 377(7), 613–622 (ASPREE).
2. O’Gorman, N. et al. (2016). *Am J Obstet Gynecol.* 214(1), 103.e1–103.e12.
3. Tsiakkas, A. et al. (2016). *Ultrasound Obstet Gynecol* 47, 472–477.
4. O’Gorman, N. et al. (2017). *Ultrasound Obstet Gynecol* 49, 756–760.
5. Stepan, H. et al. (2015). *Ultrasound Obstet Gynecol* 45, 241–246.
6. The Fetal Medicine Foundation, 2019 [online]. Prediction of risk Preeclampsia [cit. 23. 7. 2019]. Dostupné z: <https://fetalmedicine.org/research/assess/preeclampsia/first-trimester>





Motto pro následování SQC: „*Fideliter et semper*“

Statistická kontrola kvality (SQC) představuje statistický proces používaný k monitorování a hodnocení kvality analytického procesu, v němž se vytvářejí výsledky pacientů a jehož cílem je účinný záchyt podmínek stavů mimo kontrolu, zaměřený na omezení rizik pro pacienty na přijatelnou úroveň potřebnou pro správné lékařské rozhodování. Ve zdravotnických laboratořích má za sebou téměř 70letou cestu vývoje. Počátky dnešní laboratorní kontroly kvality totiž spadají do 50. let 20. století, ale už ve 30. letech minulého století započala historie statistické regulace a kontroly kvality procesů (SPC), která se v následujících letech postupně zaváděla a stávala běžnou součástí řízení kvality.

## Stručná historie QC a současnost SQC

MUDr. JAROSLAVA AMBROŽOVÁ

OKB-H Nemocnice Prachatic, a.s.

### Stručná historie QC v laboratořích

SQC vznikla jako bezprostřední důsledek automatizované výroby a poprvé se objevila a stala součástí statistiky ve Spojeném království a ve Spojených státech, kde drasticky snížila náklady na kontrolu kvality (QC), protože zavedla koncept vzorkování. Za průkopníka dnešních plánů absolutního řízení kvality (TQCP) je považován Walter Andrew Shewhart, který 16. května 1924 prezentoval jednoduchý kontrolní graf. Primárním

účelem tohoto grafu bylo zabránit výrobě vadných produktů ve společnosti Bell Telephone za předpokladu, že **variabilita v důsledku náhodných, nesystémových příčin je nevyhnutelná**. Shewhart navrhl speciální statistické techniky a specifické (kontrolní) diagramy jako nástroj QC a poté v laboratořích Bell Telephone vyvíjel různé koncepty statistické kontroly kvality. Shewhartův graf představuje prototyp dnešních **regulačních diagramů** (RD) a ty pak základ všech konceptů kontroly kvality výrobních procesů.

### Regulační průběhové diagramy

Regulační průběhové diagramy aktuálně používané ve zdravotnických



**Zkratky:** SQC: statistická kontrola kvality. TQCP: plán absolutního řízení kvality. TEa: přijatelná celková chyba. MU: nejistota měření. QC/PT/EQC: kontrola kvality / testování výkonnosti / externí kontrola kvality. W-m-p.: Westgardova multipravidla. RMI: index řízení rizika.

laboratořích jsou však úzce spojené se jmény dvou amerických chemiků, kteří v roce 1950 modifikovali Shewhartův graf a vytvořili tím diagram vhodný pro chemické analýzy běžné v lékařských laboratořích. Jmenovali se **Stanley Levey** a **Elmer Jennings** a po nich nazvané **L-J grafy** se liší od původního Shewhartova mj. způsobem odhadu směrodatné odchylky (SD). Shewhartův graf totiž využívá tzv. krátkodobý odhad SD (odvozený od tzv. racionální podskupiny), zatímco Levey-Jenningsovy grafy pracují s tzv. dlouhodobými odhady (výběrovými) SD. Mimochodem, před zavedením těchto grafů do praxe se dobrá přesnost měření v mnoha laboratořích zajišťovala jen měřením v duplikátu.

**Regulační diagram** zůstal **dodnes pevným základem a nástrojem SPC** a používá se ke znázornění změn procesu, resp. jeho klíčových metrik v průběhu času. Má vždy označenu střední hodnotu (CL – Central Line) a horní a dolní regulační mez (UCL – Upper Control Line; LCL – Lower Control Line), a často také tzv. akční meze, které jsou určeny buď z historických dat, nebo mají **cílové hodnoty určené závazným předpisem**. Z časového průběhu diagramu je možné činit závěr, zda je chování procesu či dané metriky regulované. I ve zdravotnických laboratořích se RD dodnes používají ke zjištění, **jestli proces funguje jako stabilní systém s náhodnými vlivy působícími v malém rozsahu** (zda je proces ve stavu „statisticky pod kontrolou“), či zda případně nedochází ke zlepšení nebo zhoršení tohoto stavu, a také ke sledování trendů, iterací a cyklů chování systému, tj. za účelem monitorování, zda systém vyhovuje stanoveným požadavkům.

## Cíle SQC

V SQC hraje ústřední roli její **účinné plánování a stanovení cílů**, a jde především o **detekci všech chybných výsledků**, které

svou hodnotou přesáhly nějakou přijatelnou mez (např. přijatelnou analytickou chybu  $TE_a$ ). K **výkonu SQC, který by měl být předem stanoven**, je zapotřebí:

1. zvolit vhodný **počet kontrolních vzorků a druh QC pravidel**
2. znát, resp. stanovit **odhad pravděpodobnosti (P)**, že konkrétní výsledek za stavu měřicí metody „mimo kontrolu“ mine stanovený cíl (např. přijatelnou hodnotu celkové chyby,  $> TE_a$ )

## Klasické metriky výkonu SQC dle doporučení CLSI C24<sup>1)</sup>

1. **P falešných zamítnutí (chyba I. typu**, chyba „skepse“; daná **rozměrem testu  $\alpha$** )
2. **P detekce chyb (chyba II. typu**, chyba „důvěry“; daná **silou testu  $1-\beta$** )
3. **Nové současné doplňkové metriky:**
  - a.  **$\sigma$ -metrika (Six Sigma)** převzatá z řízení rizik (ISO 14791, EP23):

$$(x) = \frac{TEa(x) - |Bias(x)|}{SD(x)}$$

- b. **Předpokládaný počet výsledků pacientů (PPVP)** postižených stavem mimo kontrolu před tím, než je stav mimo kontrolu zjištěn, v metrikách **MaxE(Nuc/Nuf)**:
  - i. **MaxE(Nuc)**: PPVP, které byly jako **chybné zachycené** ( $> TE_a$ )
  - ii. **MaxE(Nuf)**: PPVP, které byly jako **chybné vydané** a mohou vytvářet nebezpečné situace

Současné způsoby zjišťování PPVP odpovídají šesté generaci SQC (viz níže) a příslušné softwarové aplikace obsahují simulační programy založené na matematickém modelování a výpočtech P.

## Stručný pohled na současnou terminologii<sup>2)</sup>

Terminologie používaná v rámci SQC vychází z Mezinárodního metrologického slovníku (VIM), a sice z jeho aktuálního vydání (TNI 01 0115), v němž jsou definovány mj. tři důležité pojmy:

1. **Přesnost** jako těsnost shody mezi **naměřenou hodnotou veličiny a pravou hodnotou veličiny měřené veličiny**  $\sim$  (přesnost je vlastnost, která **platí pro jednu naměřenou hodnotu**)
2. **Preciznost** jako těsnost shody mezi **indikacemi** nebo **naměřenými hodnotami veličiny získanými opakovanými měřeními** na stejném objektu nebo podobných **objektech za specifických podmínek (SD,  $\sigma$ , CV)**  $\sim$  (preciznost je vlastnost **opakovaných měření**)  
**Podmnožiny preciznosti** jsou **míry odhadu náhodných chyb** za různě definovaných podmínek: opakovatelnost (**O**), mezilehlá preciznost (**MP**) a reprodukovatelnost (**R**)
3. **Pravdivost** jako těsnost shody mezi aritmetickým průměrem nekonečného počtu **opakovaných naměřených hodnot veličiny** a referenční hodnotou veličiny ( $\bar{x} - TV$ )  $\sim$  (pravdivost je vlastnost **opakovaných měření**)

**Bias (B)** představuje **míru odhadu systematické chyby** (a odtud i pravdivosti) a je to rozdíl mezi střední hodnotou výsledků opakovaných měření a **skutečnou hodnotou** (kterou obvykle neznáme). Odhad strannosti **B**, která **vždy významně zhoršuje srovnatelnost** výsledků měřené veličiny daného typu a tím **deformuje vztahy** mezi různými typy měřených veličin, **je bez vhodného materiálu velmi obtížný! Protože cílem SQC je především zajistit srovnatelnost výsledků, je také zapotřebí trvale odstraňovat B**, což s ohledem na aktuální stav standardizace/harmonizace měření různých měřených veličin odpovídajících jednotlivým analytům znamená, že se tyto analyty dělí na:

1. **dobře definované** (chemické entity, jejichž hodnoty jsou vydávány v SI jednotkách)
2. **nedobře definované** (např. různé složité proteinové molekuly, konvenční jednotky)
3. **esoterické** (vydávány v UI či arbitrárních jednotkách)



| $CV_A$      | $B_A <$                         | $TE_a <$                                           | Stav      |
|-------------|---------------------------------|----------------------------------------------------|-----------|
| 0,25 $CV_I$ | $0,125 (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$ | $1,65 (0,25 CV_I) + 0,125 (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$ | Optimální |
| 0,50 $CV_I$ | $0,250 (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$ | $1,65 (0,50 CV_I) + 0,250 (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$ | Žádoucí   |
| 0,75 $CV_I$ | $0,375 (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$ | $1,65 (0,75 CV_I) + 0,375 (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$ | Minimální |

▲ Tab. č. 1: Analytické cíle dle C. Frasera

### Specifikace analytických cílů

V roce 1967 započala **diskuse o cílech kvality** (tzv. specifikacích kvality, resp. tolerančních mezích). Podnětem k této diskusi bylo použití **standardu na zlepšování standardů kvality CLIA** (Clinical Laboratory Improvement Act). Tato norma je použitelná pro všechny typy zdravotnických laboratoří a stanovuje specifická pravidla kvality. Biologické rozdíly, analytické cíle a limity lékařských rozhodnutí byly navrženy jako cíle kvality nejen v USA, ale i v Evropě. Na konferenci v Aspen v roce 1977 bylo přijato, že **analytická variabilita měřicí**

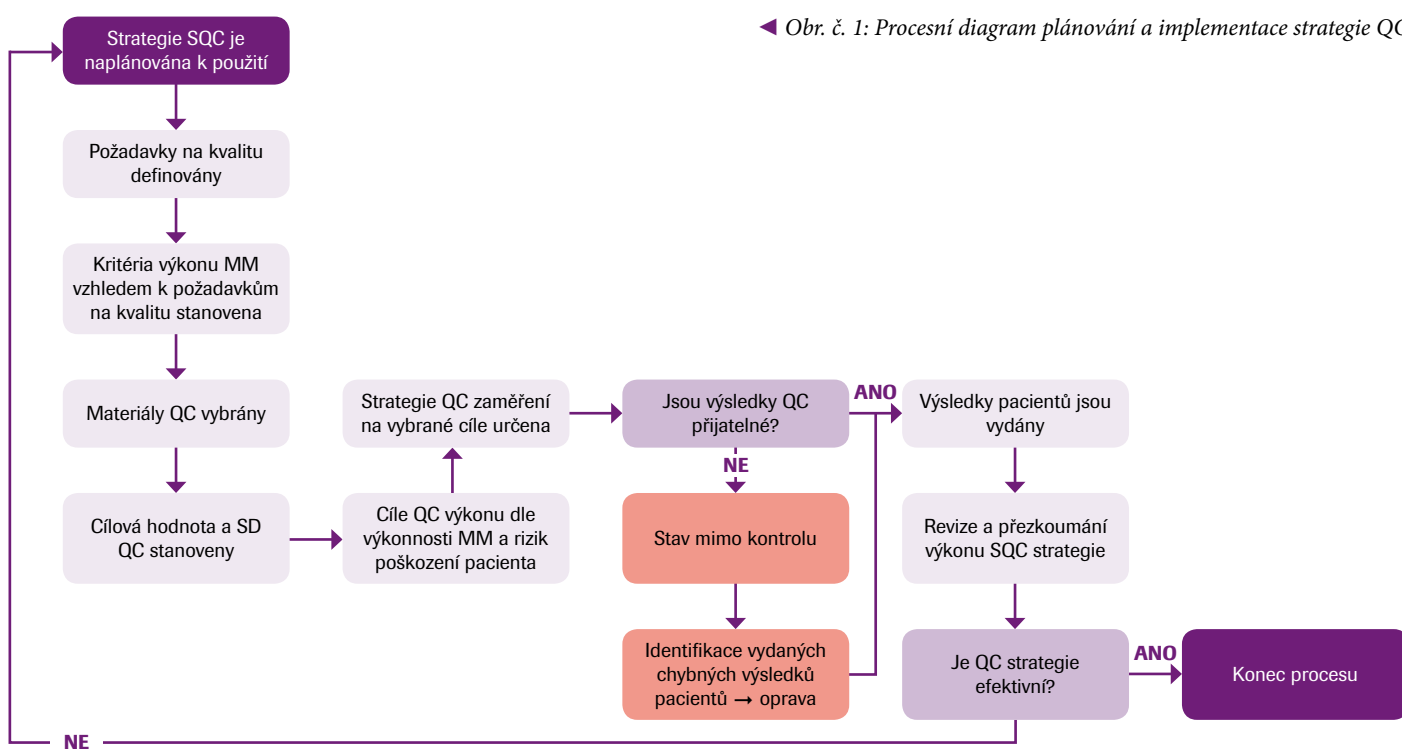
**metody by měla být udržována pod po-  
lovinou intraindividuální variability**, aby její velikost přidaná k celkové variabilitě činila maximálně cca 10–12 %. **E. M. S. Gowans** 1988 přidal ke kritériu zohledňujícímu preciznost i kritérium přijatelnosti B. Je-li B limitován  $\frac{1}{4}$  od mocniny součtu mocnin inter- a intraindividuální variability, pak jen malé procento výsledků padne falešně mimo meze referenčního intervalu dané populace. Skotskému klinickému biochemikovi **Callumu Fraserovi** a španělské lékárnici a klinické biochemičce v jedné osobě **Carmen Ricósově** se podařila teoretická i praktická aplikace biologických

variabilit coby analytických cílů v klinické biochemii.

### Cíle SQC aneb „Ať to máme pod kontrolou...“

**Motto:** Bez jasně daných **cílů** nelze hodnotit ani výkon **SQC** a ani nejlepší **model** nemusí nezbytně představovat model nejužitečnější!

**Univerzální cíl pro SQC neexistuje!** Lze pouze určit P, že chyba konkrétního výsledku přesahující přijatelnou mez (např.  $> TE_a$ ) by měla být natolik nízká, aby



◀ Obr. č. 1: Procesní diagram plánování a implementace strategie QC



zajistila klinicky požadovanou výkonnost metody měření!

Proto byly stanoveny tři klíčové modely stanovení cílů SQC, resp. přijatelných mezí ( $TE_a$ )<sup>1)</sup>:

1. **Model 1** zohledňuje vliv analytické výkonnosti dané metody měření (dále jen MM) na možný klinický dopad
2. **Model 2** zohledňuje vztah přirozené variability měřené veličiny k analytické chybě (viz též tab. č. 1)
3. **Model 3** zohledňuje nejlepší výkon dané metody měření za stavu

současných technologií (QC/PT/EQC)

Hlavním cílem SQC trvale zůstává co nejmenší chyba každého jednotlivého výsledku (= co největší přesnost každého jednotlivého výsledku) a tím i co nejmenší riziko poškození pacienta! Kvalitu výsledku pacienta tedy ovlivňuje přesnost jedinečného výsledku, což je rozdíl mezi hodnotou správnou a laboratorní vydanou. Zohlední-li se při vývoji strategie QC management rizik, měly by

se zvažovat tři druhy selhání vedoucích k vadným výsledkům vyšetření pacienta (dle ISO 14791, EP23):

- **PRAVDĚPODOBNOST výskytu chyb** (tj. jaká je pravděpodobnost, že se chyby objeví)
- **ZÁVAŽNOST chyb při jejím výskytu** (tj. jak závažné může být potenciální poškození pacienta při výskytu chyb)
- **ZÁCHYTNOST chyb** (tj. jak spolehlivě je konkrétní QC strategie schopná odhalit chybu při jejím výskytu)

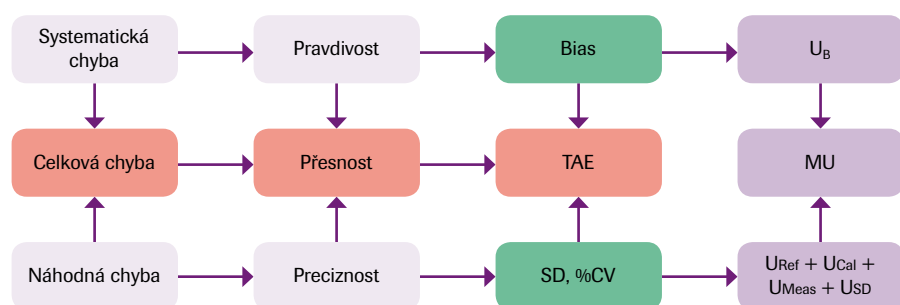
## Příklady podmínek stavů mimo kontrolu v laboratoři dle CLSI C24<sup>1)</sup>

| Možná příčina                          | Typ chyby                      | Povaha               |
|----------------------------------------|--------------------------------|----------------------|
| Sraženina nebo zbytky tkáně v pipetě   | Systematická vs. náhodná chyba | Přechodná vs. trvalá |
| Špatné mytí                            | Systematická vs. náhodná chyba | Přechodná vs. trvalá |
| Nesprávné dávkování objemu             | Systematická vs. náhodná chyba | Přechodná vs. trvalá |
| Selhání kontroly teploty               | Systematická vs. náhodná chyba | Trvalá               |
| Elektronický šum                       | Systematická vs. náhodná chyba | Přechodná vs. trvalá |
| Kalibrační problém                     | Systematická chyba             | Trvalá               |
| Znehodnocení kalibrátoru               | Systematická chyba             | Trvalá               |
| Znehodnocení reagentie                 | Systematická chyba             | Trvalá               |
| Znehodnocení QC materiálů              | Systematická chyba             | Trvalá               |
| Neprovedená kalibrace po hlavní údržbě | Systematická chyba             | Trvalá               |

## Pojem celkové analytické chyby a nejistoty měření

**Motto:** „Lékařství je věda nejistoty a umění pravděpodobnosti“ (W. Osler), to znamená, že **nejistota měření (MU)** typicky odráží nedostatek přesných znalostí o hodnotě měřené veličiny. Vysvětlení pojmů viz obrázky č. 2 a 3.

**Celková chyba (TE, TAE)** je kombinací **B** a **preciznosti** a **vlastností jedinečného výsledku měření ve vztahu ke skutečné hodnotě**. Měření je prohlášeno za přesnější, nabízí-li **menší chybu měření**.



▲ Obr. č. 2: Pohled zdravotnické laboratoře na TAE, resp. MU (dle J. O. Westgarda)<sup>3)</sup>

Legenda k obr. 2: Mírou přesnosti v přítomnosti bias B je celková analytická chyba (TAE), v nepřítomnosti B je to nejistota měření (MU), v níž je nejistota odhadu B ( $U_B$ ) zahrnuta společně s ostatními složkami nejistoty. MU lze určit součtem všech složek nejistoty odhadem shora dolů nebo zdola nahoru. Cihlově červená políčka ve schématu odpovídají vlastnostem jedinečných měření, zelená jsou vlastnosti opakovaných měření.

## Klíčové položky strategie SQC v praktickém kontextu<sup>1)</sup>

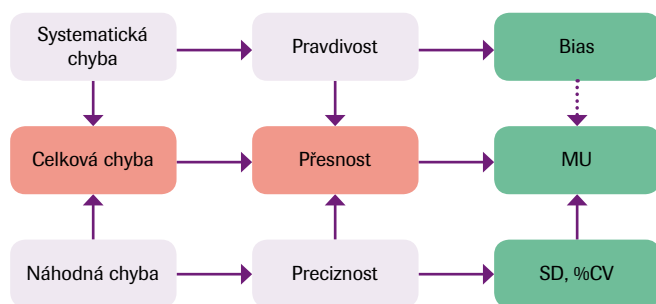
1. **Volba vhodných QC materiálů pro SQC**

2. **Cílové hodnoty ( $\bar{x}$ ) QC** stanovené tak, aby QC reagovaly velmi citlivě na posuny a trendy
3. **Postupy stanovení SD** vhodné pro efektivní nastavení regulačních diagramů

4. **Výběr vhodných vylučovacích pravidel pro IQC**; ad 1., 2., 3. a 4. viz níže

**POZOR!** Strategie SQC není totéž co postupy verifikace metod měření!





▲ Obr. č. 3: **Metrologický pohled na pojem chyby** (dle H. Petersena a kol.)<sup>3)</sup>

Legenda k obr. 3: Tečkovaná spojnice ve schématu od B k MU indikuje, že může-li být vychýlení (B) odhadováno, mělo by být eliminováno! MU je prezentována jako míra přesnosti za podmínek, kdy B bylo odstraněno nebo korigováno, či může být zanedbáno! Cihlově červená políčka ve schématu odpovídají vlastnostem jedinečných měření, zelená jsou vlastnosti opakovaných měření.

**Ad 1. Kontrolní materiály** se dle C24<sup>1)</sup> dělí na:

- Vyrobené výrobcem metody měření** – jsou-li optimalizované pro specifický systém a napodobují-li kalibrátor, nemusí být schopné odhalit některé specifické typy chyb
- Vyrobené 3. stranou pro výrobce metody měření** – mají-li vzorec podobný kalibrátoru hlavního výrobce, nemusí efektivně odhalit některé změny výkonu systému
- Vyrobené 3. stranou bez návaznosti na výrobce** metody měření nebo výrobce kalibrátoru užívaného v dané metodě měření – lze typicky použít pro různé systémy měření, jsou tudíž považovány za nejvhodnější nejen pro interní kontrolu kvality
- Poolované vzorky pacientů** nebo jiné laboratorní materiály – přijatelná volba pro některé typy analytů, ovšem poolování a suplementace mohou porušit matici materiálu

Materiály určené ke QC by se měly lišit od materiálů kalibračních, aby se zajistilo, že výsledky QC poskytují nezávislý odhad výkonnosti metody měření v její komplexnosti, včetně postupu kalibrace. Je-li nezbytné použít kalibrátory užité jako kontrolní materiály, je třeba, aby šarže kalibrátoru byla jiná než šarže kalibrátoru použitého jako QC. U většiny postupů měření jsou jako minimum doporučeny alespoň dvě koncentrace QC

materiálů. K adekvátnímu monitorování výkonnosti postupu měření a umožnění aplikace QC pravidel, která zlepšují detekci a interpretaci potenciálních chyb měření (např. proporcionální nebo konstantní, náhodná versus systematická), je často nezbytné použít víc různých koncentračních hladin QC vzorků.

**Ad 2. Cílové pravdivé hodnoty (TV) QC** jako statistický parametr polohy Iničiální **pravdivá hodnota (TV)** se určuje pomocí minimálně **10 měření v separátních dnech** a odtud pak **odhad  $\bar{x}$  přezkoumané TV** zahrnuje **více kalibrací a změny šarží reagentů** (CLSI EP 26)

**Ad 3. Úloha SD v RD** a v efektivní strategii SQC = **volba vhodných SD** (statistický parametr variability) a je nutno rozlišovat:

- SD vhodné k verifikaci metody měření** (údaje z příbalových letáků PL) odpovídají SD krátkodobé výkonnosti metody (dle CLSI EP 15 A3)
- SD vhodné k efektivní strategii SQC** a k hodnocení dlouhodobé výkonnosti metody měření ( $\sigma$ -metrikou) reprezentující **stabilní dlouhodobou výkonnost metody** a jsou zde rozlišeny dva **druhy nastavení SD**:
  - počáteční**
  - dodatečné** (revize)

Standardní postup iničiálního odhadu preciznosti formou stanovení SD (CV)

představuje **minimálně 20 dní měření, stejné šarže reagentů a účast stejného operátora** a zároveň existuje závislost vhodnosti odhadu SD na frekvenci kalibrací MM (viz níže)!

SD založené na měřeních po dobu kratší než jeden měsíc jsou obvykle méně klinicky relevantní a lze u nich předpokládat, že podhodnocují SD reprezentující dlouhodobou stabilní výkonnost metody měření, klíčovou pro nastavení SQC a validnost odhadu sigma metriky. **Doba potřebná k dosažení spolehlivé reprezentace všech zdrojů variability do SD však vždy závisí na konkrétní metodě měření.** Např. je-li **metoda kalibrována v každé sérii**, pak studie SD prováděná po dobu **20 dní** (takzvaná validační MP dle CLSI EP 05) může **spolehlivě reprezentovat sledované zdroje kalibrační variability**, neboť jsou při takové frekvenci kalibrací zkoumány dostatečně často. Nicméně nezřídka vedou 20denní studie SD určené pro efektivní strategii SQC k jejímu podhodnocení, a proto by měly představovat minimální, spodní mez přípustných SD.

Na druhé straně u metod měření, které se **kalibrují 1x za týden**, může trvat **i více než čtyři měsíce**, než je dosaženo srovnatelně spolehlivých odhadů kalibrační variability. Podobně je tomu s ostatními příspěvky jiných cyklických příležitostných zdrojů variability, které mohou významně přispívat k dlouhodobé stabilní výkonnosti metody měření, kde je také obvykle zapotřebí několikaměsíční studie SD pro zajištění jejich adekvátní reprezentace.

Odhady vnitřní laboratorní preciznosti poskytované v příbalových letácích výrobců nebo nezávislé literatuře se obecně vztahují **v nejlepším případě ke spodním mezím SD potřebných pro efektivní strategii QC** nebo pro vyhodnocení výkonnosti metody měření sigma metrikou, což je část informací potřebných pro SQC. Námítky se týkají



faktu, jak přiblížit relevantní SD v krátké době zavádění nové metody měření a jak reagovat na výstrahy pravidel QC, když odhady SD nedosahují adekvátní spolehlivosti.

**Dobrá rada na okraj:** Laboratoř by pro své cíle stanovené v SQC měla vždy získat **dostatek homogenního, stabilního kontrolního materiálu** (tj. nejlépe stejné šarže s expirací minimálně jeden rok a více) a zároveň „lahvičková“ **variabilita** vhodně zvoleného kontrolního materiálu by měla být mnohem menší než variabilita zjištěná v postupu měření, který je monitorován. **QC materiály** by v každém případě měly mít pro daný analyt **prokázanou stabilitu** po dobu své deklarované trvanlivosti a během deklarovaného intervalu po otevření lahvičky!

## 8 doporučení C. A. Parvina

1. Na konci série vyšetření pacientů zařadit vždy analýzu vzorků QC
2. Znat počet pacientů mezi každým vyhodnocením QC pro možnost odhadu metrik jako  $\text{MaxE}(\text{Nuc}/\text{Nuf})$
3. Čas mezi vyhodnocením QC by měl být mnohem kratší než čas potřebný ke korekci chybných výsledků, které již byly vydány
4. Provést odhad závažnosti stavu mimo kontrolu před tím, než je odstraněn
5. Odhadnout spolehlivost metody měření (např.  $\sigma$ -metrikou, resp. pomocí postupů z řízení rizik)
6. Rozdělit analyty na ty, které mají vysokou ( $> 6$ ) nebo naopak nízkou ( $< 3$ )  $\sigma$ -metriku, odtud pak odvodit správně dimenzovanou SQC volbou cílů, grafů, W-m-pravidel

7. Přidat QC tam, kde je vysoká P vydání vadných výsledků
8. Přidat QC tam, kde vydání jednoho vadného výsledku může zavinit závažné poškození pacienta

## Volba W-m-pravidel dle hodnot $\sigma$ -metriky

V následujících třech bodech je stručně vyjádřen způsob volby vhodné kombinace W-m-pravidel dle odhadu  $\sigma$ -metriky dané metody měření. Je-li  $\sigma$ -metrika méně nebo rovno po řadě 3, 4, 5, použije se následující doporučená kombinace W-m-p:

1.  $3 \sigma \rightarrow 1_{3s}/2$  ze  $3_{2s}/R_{4s} / 3_{1s}/6_x$  nebo  $1_{3s}/2_{2s}/R_{4s} / 4_{1s}/8_x$
2.  $4 \sigma \rightarrow 1_{3s}/2_{2s}/R_{4s} / 4_{1s}$  nebo  $1_{2,5s}$
3.  $5 \sigma \rightarrow 1_{3s}$  nebo  $1_{2,5s}$  nebo  $1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}$

## $\sigma$ -metrika jako nástroj srovnání analytických systémů

| Metoda                      | Analyzátor                               | TEa (data dle C. Ricós)                                       | Průměr QC                   | CV (%)                   | Bias (%)                   | $\sigma$ -metrika        |
|-----------------------------|------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|-----------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|
| Na+<br>K+<br>Glukóza<br>Hgb | EPOC<br>(analyzátor<br>krevních plynů)   | $\pm 4$ mmol/l<br>$\pm 0,5$ mmol/l<br>$\pm 10$ %<br>$\pm 7$ % | 139,6<br>4,1<br>5,5<br>10,9 | 0,2<br>0,5<br>1,0<br>0,4 | 0,7<br>2,5<br>10,0<br>10,0 | 10,7<br>19,4<br><3<br><3 |
| Na+<br>K+<br>Hgb            | I-STAT<br>(analyzátor<br>krevních plynů) | $\pm 4$ mmol/l<br>$\pm 0,5$ mmol/l<br>$\pm 7$ %               | 141,4<br>4,5<br>10,2        | 0,2<br>0,5<br>0,4        | 1,4<br>2,2<br>7,5          | 14,2<br>17,8<br><3       |
| Na+<br>K+<br>Glukóza        | Architect ci 8200                        | $\pm 4$ mmol/l<br>$\pm 0,5$ mmol/l<br>$\pm 10$ %              | 141,6<br>4,1<br>4,8         | 0,8<br>0,8<br>1,1        | 0,7<br>0,1<br>0,3          | <3<br>15,5<br>6,0        |
| Hgb                         | CD Sapphire                              | $\pm 7$ %                                                     | 12,2                        | 1,8                      | 1,6                        | 3,0                      |

▲ Tab. č. 2: Srovnání  $\sigma$ -metriky čtyř metod čtyř různých analytických systémů<sup>1</sup> ( $TE_a$  = přijatelná analytická chyba)

## Technologický pokrok a vývoj SQC<sup>4)</sup>

Šest generací statistické kontroly kvality představuje v kostce sedmdesátiletý vývoj tohoto oboru, který ovlivnil technologický pokrok směřující ke zvyšování efektivity a výkonnosti kontroly kvality, v němž sehrálo roli mnoho významných osobností, nicméně právě **objev kontrolních multipravidel J. O. Westgardem** potvrdil jeho nespornou roli otce

laboratorní QC při výuce následovníků. Stal se nejslavnějším výzkumníkem v oblasti QC automatizovaných analyzátorů. Pracoval hlavně na počítačových simulacích, rozhodovacím limitu CUSUM grafu, výkonnostních funkcích, rozhodovacích multipravidlech pro kvalitu v Levey-Jenningsových grafech, které dodnes nesou jeho jméno, na specifikaci grafů operačních procesů, na validaci metod a teorii Six Sigma. Pracoval v týmech s mnoha dalšími vědci na dokumentaci

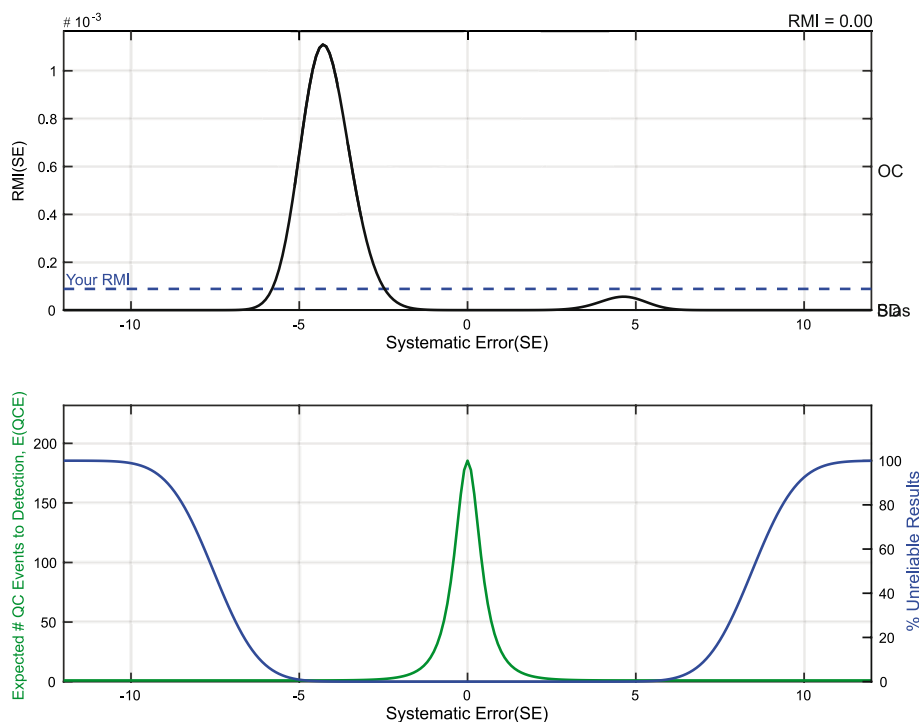
řady metod určených ke kontrole kvality, používajících jak kontrolní vzorky, tak výsledky pacientů. Napsal šest knih a je autorem simulačních programů pro statistickou kontrolu kvality. Jeho webová stránka [www.westgard.com](http://www.westgard.com) je bohatým zdrojem informací o statistické kontrole kvality.

**První generace SQC** vznikla ještě před vývojem automatizovaných analyzátorů a začala zaváděním Shewhartových

a Levey-Jenningsových grafů (30., resp. 50. léta 20. století) do klinické biochemie. První aplikace těchto grafů v klinické chemii používaly kreslicí papír, zpočátku bez různých hodnotových hladin. Za standardní, resp. tradiční QC se považovalo použití minimálně 2 hladin kontrol 1x za den v rámci jedné série testovaných pacientů ( $N = 2$ ,  $R = 1$ ) pro všechny metody a jako QC rozmezí se používala rozmezí daná výrobcí kontrolních materiálů a nepoužívala se žádná rozhodovací pravidla vymezující přijatelná rozmezí.

**Druhá generace SQC** přišla s **prvními automatizovanými analyzátory**, které snížily výskyt náhodných chyb, takže se do hledáčku dostaly chyby systematické a potřeba je detekovat. Ta vedla k zavedení nových kontrolních grafů, jako je CUSUM graf (E. Page, 1954), a k prvnímu pokusu o využití výsledků pacientů ke QC, jako jsou průměry normálů (AON, 1965, Robert Hoffmann a Michael Waid). **Za pravou SQC** je považována ta, v níž se počet, typ a frekvence testování QC materiálů určuje z testované výkonnosti laboratoře. Cílem takové SQC je detekce chyb v čase pomocí postupů QC sloužících k **monitorování přesnosti a preciznosti** komplexu analytického procesu, které ovlivňují změny zkušebního systému, podmínky prostředí a výkon operátorů. **Vývoj pravé SQC umožnila elektronizace QC.**

**Třetí generace SQC** přichází se **zaváděním informatiky**. Kombinace informatiky a laboratorní techniky vedla k vývoji automatizovaných modelů analyzátorů, kde kontrolu kvality převzaly počítačové programy. V tomto období se nejprve používala známá ovládací **Westgardova multipravidla** (W-m-p.) a algoritmus klouzavých průměrů (Brian Bull, 1974). V laboratořích se od použití dvou kontrolních vzorků v jedné sérii a jednoho rozhodovacího pravidla ( $N = 2$ ,  $R = 1 + 1$  W-p., obvykle  $1_{2s}$ ) a od rozmezí kontrolních materiálů od výrobců pro všechny metody došlo



▲ Obr. č. 4: Příklad grafů software Mission (BioRad, verze 2): grafické vyjádření odhadu indexu řízení rizika (RMI) a počtu nespolehlivých výsledků jako funkce systémové chyby (SE)

25. 2. 2019

Analytical Risk Assessment

## Mission:Control<sup>®</sup> Analytical Risk Assessment

Calcium . mmol/L  
Abbott ARCHITECT c8000 (138941)

OKB-H;OKB-H (138941)  
Nebahovská 1015  
Prachatic, CZ, 38301  
Czech Republic

| Risk Analysis                                                                                                                                                                                                                                                                                             |  | QC Strategy                                                                                                                                                                                           |                                    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| A Risk Management Index (RMI) $\leq 1$ indicates Managed Risk.<br>RMI = <0.001<br>In-Control RMI = <0.001<br>Imprecision RMI = <0.001<br>Bias RMI = <0.001<br>Out-of-Control RMI = <0.001<br>Maximum RMI = 0.001, occurs at Systematic Error (SE) -4.30, it is expected to take 1.02 QC events to detect. |  | 1:3s QC rule<br>Single replicate, 2 levels of QC (2 QC's)<br>Evaluated every 10.0 specimen tests for analyte<br>False rejection rate = 0.539 %<br>Expected Time between False Rejections = 92.7 days. |                                    |
| Risk Parameters                                                                                                                                                                                                                                                                                           |  | QC Rule Statistics                                                                                                                                                                                    |                                    |
| Severity of Harm Category: Serious<br>Acceptable Probability of Harm: 0.0001<br>Probability of Harm from Erroneous Result: 50.0                                                                                                                                                                           |  | Mean                                                                                                                                                                                                  | SD                                 |
| Reliability                                                                                                                                                                                                                                                                                               |  | Reference Mean                                                                                                                                                                                        |                                    |
| Mean Time Between Failures (MTBF): 30 days<br>20 Patients per day<br>Mean Patients Between Failure (MPBF): 600                                                                                                                                                                                            |  | Level 1                                                                                                                                                                                               | 1.55 (Lab) 0.016 (Lab) 1.56 (Peer) |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |  | Level 2                                                                                                                                                                                               | 2.55 (Lab) 0.027 (Lab) 2.56 (Peer) |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |  | Performance                                                                                                                                                                                           |                                    |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |  | Allowable Total Error (TEa) = SEKK 8%<br>Average Sigma Metric = 7.13                                                                                                                                  |                                    |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |  | Test Method Statistics                                                                                                                                                                                |                                    |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |  | Lab Mean                                                                                                                                                                                              | Lab SD                             |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |  | Lab CV                                                                                                                                                                                                | Lab Sigma                          |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |  | Peer Mean                                                                                                                                                                                             | Peer SD                            |
| Level 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |  | 1.55                                                                                                                                                                                                  | 0.016                              |
| Level 2                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |  | 2.55                                                                                                                                                                                                  | 0.027                              |

▲ Obr. č. 5: Příklad zprávy softwaru MISSION Control (2. verze): Kalcium

postupně přes  $N = 2$ ,  $R = 2$  s **kombinací W-p.** k cíli, tzv. pravé SQC, kde počty kontrolních vzorků na sérii a typ rozhodovacích pravidel určuje individuální

výkon metody s ohledem na vlastní stanovenou (ověřenou) cílovou hodnotu průměrů a SD ( $N = x$ ,  $R = y$ , **W-m-pravidla**). Bezpočet metod řízení kvality

pak vytvořil potřebu vhodných technik výběru. První počítačové simulační programy snížily potřebu komplikovaného matematického ověřování spolehlivosti různých metod kontroly kvality.

**Čtvrtou generaci SQC** představuje rychlý **nástup laboratorních informačních systémů (LIS)**. Sjedení všech laboratorních operací do jediného LIS, často spojeného s informačním systémem větší zdravotnické instituce (např. nemocniční – NIS), způsobilo radikální změny ve statistické kontrole kvality. Metody založené na výsledcích pacienta (průměr normálů, delta kontroly) mohou být v laboratoři realizovány bez obtíží. LIS také dosáhly významného snížení postanalytických chyb a plánování kvality a cílů QC.

**Pátou generaci SQC** tvoří **automatizace laboratorních procesů**. Preamalytické systémy (nebo obecněji laboratorní automatizační systémy – LAS) představují nejnovější trend v laboratorní technologii s velkým potenciálem pro budoucí zlepšení. Takové systémy především snižují preanalytické chyby, ale také řeší aspekty

postanalytických úkolů, jako je archivace vzorků. Nakonec nové přístupy umožňují výběr nejvhodnější metody kontroly jakosti ve všech případech. 1. vydání doporučení CLSI C24 je datováno rokem 1991 (J. O. Westgard).

**Za šestou generaci SQC** jsou považovány **plán absolutní kontroly kvality (TQCP)**, resp. **individuální plán kontroly kvality (IQCP, CAP, 2016)**, jejichž nezbytnou součástí je definování požadavků a cílů na kvalitu, v nichž QC, počet N a R, typ W-m-pravidel závisí na nových metrikách, jako je Six Sigma, a/nebo na **odhadu rizik dané metody (CLSI EP23 (ISO 14791)** Laboratorní QC založená na řízení rizik). **TQCP** je prezentován ve 4. vydání **CLSI C24 (C. A. Parvin)**. Nezbytnou součástí technické vybavy představuje sofistikovaný QC software (např. *UnityRealTime a Mission Control MC*, viz obrázky č. 4 a 5). Oba grafy programu MC verze 2 mají jedno společné: jak index řízení rizika (RMI, černá křivka v horním grafu), tak počet nespolehlivých výsledků a kontrolních vzorků potřebných k jejich odhalení (modrá a zelená křivka ve spodním grafu) jsou **funkcí systémové chyby** (obrázek č. 4).

## **ISO 15189: od teorie SQC k praxi**

Nový standard vytvořený výhradně pro zdravotnické laboratoře EN ISO 15189 vyzývá klinické laboratoře, aby používaly nejmodernější metody a dodržovaly pokyny mezinárodních vědeckých organizací. Pro diagnostické účely musí laboratoře používat IVD činidla a zařízení. Pracovníci laboratoře musí být obeznámeni s veškerými podrobnostmi svých metod (tj. s principy, interferencemi a zejména výkonnostními/provozními charakteristikami metod) a mít je na paměti v každodenní praxi. Použití správných metod interní kontroly jakosti a účast laboratoře v cyklech externích kontrol kvality dle normy ISO 15189 změnila jeden ze základních úkolů manažerů kvality laboratoře. Norma ISO 15189 také do klinických laboratoří přinesla některé nové koncepty statistické kontroly kvality. Odhady limitů detekce, referenčních/rozhodovacích mezí a nejistoty se staly součástí podmínek úspěšné akreditace klinické laboratoře. Stanovení zdrojů neurčitosti a odhadu jejich hodnoty pro každou metodu je základním nástrojem porovnávání metod vytvořených různými laboratořemi navzájem.



### **prim. MUDr. Jaroslava Ambrožová**

OKB-H Nemocnice Prachatic, a.s.

Kontakt: ambrozova@nempt.cz

Od roku 1983 pracuje jako lékařka v laboratořích specializovaných na klinickou biochemii a hematologii, od roku 1989 na pozici lékařky vedoucí laboratoře různých úrovní. V době postgraduálního vzdělávání absolvovala tři zahraniční pobyty v mezinárodních lékařských vzdělávacích centrech (Drážďany, Adelaide, Chicago). Původní specializací v klinické biochemii II. stupně si velmi záhy rozšířila o interní lékařství s nástavbovou specializací v hematologii a transfúzní službě, a proto také dlouhou řadu let lékařsky zajišťuje i dvě specializované ambulance: metabolickou a hematologickou. V letech 1985–1988 absolvovala postgraduální kurz FF UK a ČSAV „Základy matematických metod pro využití v experimentálním výzkumu“, z něhož mj. vychází její celoživotní zájem o aplikovanou matematiku a zejména pak o korektní statistické zpracování dat, produkovaných v hojné míře právě ve zdravotnických laboratořích. Inspiraci ke své práci v posledních letech nejčastěji hledá a spolehlivě nachází v nejrůznějších doporučeních CLSI.

Ve volném čase relaxuje zahrádničením, příležitostným cestováním a sportem (plavání a pilates), návštěvou kulturních akcí, četbou všeho možného a hrou na klavír.

## **LITERATURA**

1. CLSI C24 Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions, 4th Edition.
2. TNI 01 0115 Mezinárodní metrologický slovník – Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny (VIM).
3. Risk, Error and Uncertainty: Laboratory Quality Management in the Age of Metrology – Westgard JO, Armbruster D, Westgard SA, 2017.
4. The History of Statistical Quality Control in Clinical Chemistry and Hematology (1950–2010) – Petros Karkalousos, Angelas Evangelopoulos, Internal Journal of Biomedical Laboratory Science (IJBL) 2015, Vol. 4.





V akademickém roce 2018/2019 proběhla na Oddělení klinické hematologie Ústavu laboratorní diagnostiky ve Fakultní nemocnici Ostrava studie s názvem „Stanovení protrombinového testu a aktivovaného parciálního tromboplastinového testu na přístroji CoaguChek® Pro II“. Tato studie byla hlavním tématem bakalářské práce studenta Lékařské fakulty Ostravské univerzity, studujícího bakalářský obor „Zdravotní laborant“.

## Porovnání PT a aPTT mezi POCT přístrojem CoaguChek® Pro II a koagulačními analyzátory cobas t 511 a Sysmex CS-5100

Ing. MARTIN PULCER, Ph.D., MBA,<sup>1,2</sup> ONDŘEJ HÝVNAR<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Oddělení klinické hematologie, Ústav laboratorní diagnostiky, Fakultní nemocnice Ostrava

<sup>2</sup> Lékařská fakulta, Ostravská univerzita

### Úvod

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. Většina vyšetření se provádí v klinických laboratořích. Vedle nich

roste počet těch, která se měří v režimu tzv. POCT.

Přístroje POCT (Point-of-care testing) jsou určeny k provádění laboratorních vyšetření v přímé blízkosti pacienta. Významným přínosem je doba odezvy, která je kratší než doba odezvy laboratoře. Proto nacházejí tyto přístroje uplatnění zejména v urgentní medicíně, ordinacích praktických lékařů a s výhodou jsou také používány u vybraných pacientů pro monitorování léčby v domácím prostředí. Spektrum testů v režimu POCT je široké. Je možné měřit krevní plyny, některé parametry krevního obrazu, základní koagulační testy a další parametry.

V současné době je na trhu k dispozici velký výběr různých typů POCT





▲ Obr. č. 1: CoaguChek® Pro II



▲ Obr. č. 2: cobas t 511

přístrojů. Pro běžnou klinickou praxi je ale důležité, aby pravdivost vydávaných výsledků byla podložena a ověřována v externím hodnocení kvality, aby byl zaveden dobře fungující systém vnitřní kontroly kvality včetně mezipřístrojové porovnatelnosti, tedy porovnatelnosti výsledků mezi POCT a centrální laboratorii.

Tato práce se zaměřila na porovnání dvou nejběžněji vyšetřovaných koagulačních testů (PT, aPTT), které mohou

být vyšetřovány jak na automatických koagulačních analyzátoch (**cobas t 511**, **Sysmex CS-5100**), tak na přístroji POCT (**CoaguChek® Pro II**). Byly porovnávány analytické charakteristiky jednotlivých systémů (přesnost měření za podmínek opakovatelnosti v sérii a nejistoty měření). Cílem práce tedy bylo komplexní zhodnocení vyšetřování PT a aPTT pomocí POCT přístroje a dvou koagulačních analyzátorů.

### Použité přístroje

Koagulační analyzátor **Sysmex CS-5100** je využíván pro měření rutinních koagulačních testů na Oddělení klinické hematologie Ústavu laboratorní diagnostiky ve Fakultní nemocnici Ostrava. Firma Roche Diagnostics s.r.o. zapůjčila přístroj POCT **CoaguChek® Pro II** a koagulační analyzátor **cobas t 511**.

Na obrázku č. 1 je zobrazen POCT přístroj **CoaguChek® Pro II** firmy Roche. Umožňuje vyšetřit protrombinový test (PT-INR) a aktivovaný parciální tromboplastinový test (aPTT). Přístroj vydává výsledky PT-INR v rozmezí 0,8–8, resp. 20–130 sekund u aPTT. Součástí přístroje je čtečka čárových kódů, konektor pro napájecí adaptér, otvor pro kódovací čip a otvor, do něhož se umísťuje testovací proužek (CoaguChek PT Test či CoaguChek aPTT Test). Proužky CoaguChek® Test obsahují lyofilizované reagentie (aktivátory, peptidový substrát a další komponenty). Aplikací krve na proužek se zahájí proces koagulace vedoucí k vytvoření enzymu trombinu. Od tohoto okamžiku se začne měřit koagulační čas. Trombin štěpí peptidový substrát a tím se následně vytváří elektrochemický signál. V závislosti na čase, který uplynul od prvního signálu, je signál převeden algoritmem do odpovídajícího formátu výsledku pro PT-INR (-) a aPTT (s). Pro každý test je potřeba pouhých 8 µL krve. Krev nesmí obsahovat protisrážlivá činidla (např. EDTA, citrát, oxalát, heparin).

Měření musí být provedeno do 30 sekund od okamžiku odběru u venózní či arteriální krve, resp. do 15 sekund u odběru kapilární krve.

Přístroj **CoaguChek® Pro II** má několik vestavěných funkcí kontroly kvality:

- kontrola elektronických součástí a funkcí při každém zapnutí přístroje,
- kontrola teploty testovacího proužku v průběhu měření,
- kontrola data expirace a šarže testovacího proužku podle údajů z kódovacího čipu,
- průběžná kontrola kvality u jednotlivých proužků.

K dispozici jsou i atestované firemní kapalné kontrolní materiály CoaguChek PT Controls a CoaguChek aPTT Controls na dvou hladinách, tj. normální a patologické.

Na obrázku č. 2 je zobrazen koagulační analyzátor firmy Roche **cobas t 511**. Jedná se taktéž o plně automatizovaný koagulační analyzátor, který je určen k diagnostickému použití pro analýzu koagulačních, chromogenních a imunoturbidimetrických metod ve středních či velkých klinických laboratořích. Přístroj stanovuje koagulační čas PT do 80 sekund v základním nastavení testu, resp. 180 sekund v nastavení s prodlouženou dobou měření. Rozsah stanovení koagulačního času pro aPTT je až 174 sekund v základním nastavení testu, možnost prodlouženého měření pro tuto aplikaci přístroj nenabízí. Tento analyzátor je schopen zpracovat až 195 PT/aPTT testů za hodinu. Analyzátor jako jediný na trhu umožňuje automatickou rekonstituci reagentií díky systému reagentních kazet, na rozdíl od konkurenčních výrobců, kteří reagentie dodávají v samostatných lahvičkách. Tento prvek výrazně minimalizuje nutnost manuálních zásahů při obsluze analyzátoru. Dalším významným inovativním prvkem je chlazený zásobník na reagentie, který je součástí analyzátoru.



▲ Obr. č. 3: Sysmex CS-5100

Na obrázku č. 3 je zobrazen koagulační analyzátor **Sysmex CS-5100**. Jedná se o plně automatizovaný koagulační analyzátor, který je určen k diagnostickému použití pro analýzu koagulačních, chromogenních, imunoturbidimetrických a agregačních metod ve velkých klinických laboratořích. Přístroj umožňuje stanovit koagulační čas PT a aPTT v rozsahu až 170 sekund v základním nastavení testu, resp. do 300 sekund (test PT) a 600 sekund (test aPTT) v nastavení s prodlouženou dobou měření. Výkon analyzátoru dosahuje až 400 PT/aPTT testů za hodinu. Inovativní prvek tohoto analyzátoru představuje možnost stanovení agregačních i koagulačních metod pouze v jedné analytické platformě.

Koagulační analyzátoři **cobas t 511** a **Sysmex CS-5100** byly v rámci této studie vedeny jako referenční, neboť se jedná o koagulační analyzátoři měřící s vysokou přesností a správností. Naopak POCT přístroje mají obecně horší výkonnostní charakteristiky.

Všechny tři používané reagentie pro stanovení PT, tj. testovací proužky PT (**CoaguChek® Pro II**), PT Rec (**cobas t 511**) firmy Roche s.r.o. a Dade

| <b>CoaguChek PT<br/>(CoaguChek® Pro II)</b>                      | <b>PT Rec<br/>(cobas t 511)</b>                                  | <b>Dade Innovin<br/>(Sysmex CS-5100)</b>                                                    |
|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| lyofilizovaná reagentie s lidským rekombinantním tromboplastinem | lyofilizovaná reagentie s lidským rekombinantním tromboplastinem | lyofilizovaná reagentie s lidským rekombinantním tromboplastinem a syntetickými fosfolipidy |
| látka neutralizující heparin                                     | látka neutralizující heparin                                     | látka neutralizující heparin                                                                |
| –                                                                | kalcium                                                          | kalcium                                                                                     |
| stabilizátory                                                    | stabilizátory                                                    | stabilizátory                                                                               |
| –                                                                | pufry                                                            | pufry                                                                                       |

▲ Tab. č. 1: Složení reagentií pro stanovení PT

| <b>Interferující látka</b> | <b>CoaguChek PT<br/>(CoaguChek® Pro II)</b> | <b>PT Rec<br/>(cobas t 511)</b> | <b>Dade Innovin<br/>(Sysmex CS-5100)</b> |
|----------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------|------------------------------------------|
| Bilirubin (mg/dL)          | 30                                          | 40                              | 60                                       |
| Hemoglobin (mg/dL)         | 1 000                                       | 200                             | 200                                      |
| Heparin (IU/mL)            | 3,0 pro UFH,<br>3,0 pro LMWH                | 1,0 pro UFH,<br>1,5 pro LMWH    | 2,0 pro UFH                              |
| Lipidy (mg/dL)             | 1 000                                       | 500                             | 203                                      |

▲ Tab. č. 2: Vliv interferujících látek na stanovení PT

| <b>CoaguChek aPTT<br/>(CoaguChek® Pro II)</b> | <b>aPTT Screen<br/>(cobas t 511)</b> | <b>Pathromtin SL<br/>(Sysmex CS-5100)</b> |
|-----------------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------------|
| kaolin                                        | křemičitany                          | křemičitany                               |
| směs fosfolipidů                              | směs sójových fosfolipidů            | směs rostlinných fosfolipidů              |
| stabilizátory                                 | kalcium                              | kalcium                                   |
| –                                             | pufry                                | HEPES                                     |
| –                                             | konzervační látky                    | konzervační látky                         |
| –                                             | stabilizátory                        | stabilizátory                             |

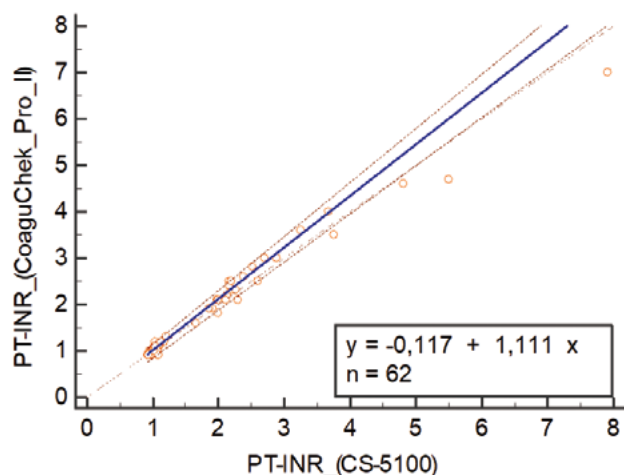
▲ Tab. č. 3: Složení reagentií pro stanovení aPTT

| <b>Interferující látka</b> | <b>CoaguChek aPTT<br/>(CoaguChek® Pro II)</b> | <b>aPTT Screen<br/>(cobas t 511)</b> | <b>Pathromtin SL<br/>(Sysmex CS-5100)</b> |
|----------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------------|
| Bilirubin (mg/dL)          | 20                                            | 66                                   | 12                                        |
| Hemoglobin (mg/dL)         | 400                                           | 1 200                                | 1 000                                     |
| Lipidy (mg/dL)             | 1 000                                         | 500                                  | 288                                       |

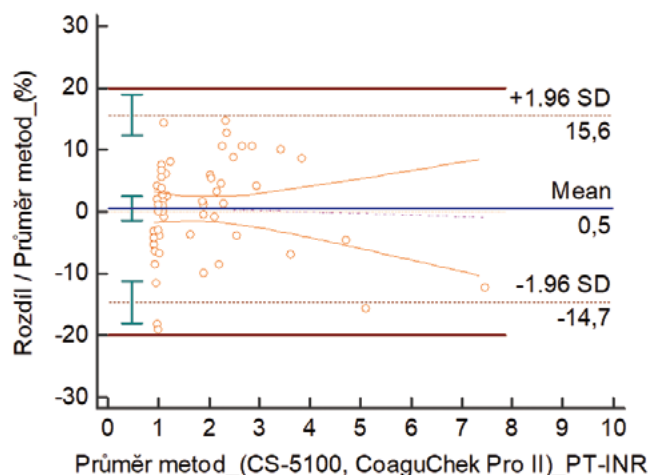
▲ Tab. č. 4: Vliv interferujících látek na stanovení aPTT

Innovin firmy Siemens Healthcare, s.r.o., (**CS-5100**), jsou založené na lidském rekombinantním tromboplastinu. Jedná se o reagentie, které mají obvykle hodnoty ISI blízké 1,0 a zpravidla se pohybují v intervalu 0,95–1,05. Všechny tři reagentie navíc obsahují látku neutralizující heparin. Detailní složení reagentií je uvedeno v tabulce č. 1.

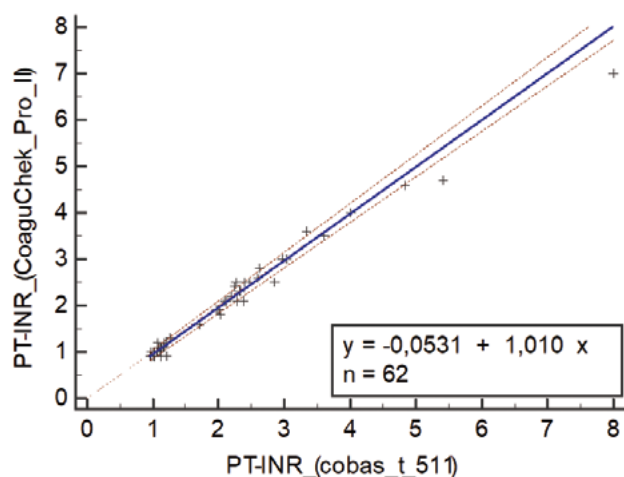
Tabulka č. 2 uvádí vliv jednotlivých interferujících látek na stanovení PT. Stanovení PT pomocí **CoaguChek® Pro II** neovlivňuje hemoglobin a přítomnost lipidů až do hodnoty 1 000 mg/dL, dále heparin (UFH i LMWH) až do hodnoty 3,0 IU/mL a pouze bilirubin ovlivňuje stanovení již v koncentraci nad 30 mg/dL.



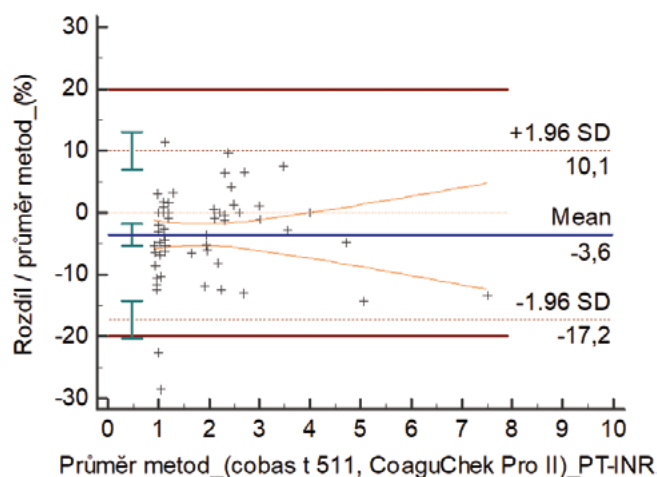
▲ Obr. č. 4: Passing-Bablokův diagram pro PT-INR (CS-5100 a CoaguChek® Pro II)



▲ Obr. č. 5: Bland-Altmanův diagram pro PT-INR (CS-5100 a CoaguChek® Pro II)



▲ Obr. č. 6: Passing-Bablokův diagram pro PT-INR (cobas t 511 a CoaguChek® Pro II)



▲ Obr. č. 7: Bland-Altmanův diagram pro PT-INR (cobas t 511 a CoaguChek® Pro II)

Složení reagentů pro stanovení aPTT je popsáno v tabulce č. 3. Reagencie aPTT Screen (**cobas t 511**) a Pathromtin SL (**Sysmex CS-5100**) používají jako kontaktní aktivátory křemičitany. Naproti tomu v testovacích prouzcích pro aPTT (**CoaguChek® Pro II**) působí jako aktivátor kaolin. Všechny tři reagencie dále obsahují různé směsi fosfolipidů, které ovlivňují charakter testu a jeho citlivost vůči koagulačním faktorům, lupus anti-koagulans či heparinu.

Tabulka č. 4 uvádí vliv jednotlivých interferujících látek na stanovení aPTT. Z uvedených údajů vyplývá, že stanovení

aPTT pomocí **CoaguChek® Pro II** neovlivňuje přítomnost lipidů až do koncentrace 1 000 mg/dL, což je výrazně vyšší hodnota ve srovnání s reagenty používanými na obou koagulačních analyzátořech. Bilirubin ovlivňuje stanovení aPTT přístrojem **CoaguChek® Pro II** prakticky skoro stejně jako při analýze pomocí reagentie Pathromtin SL. Naopak hemoglobin negativně ovlivňuje testy prováděné na přístroji **CoaguChek® Pro II** v koncentraci již nad 400 mg/dL, což je výrazně nižší hodnota než u obou koagulačních analyzátořů. Tento fakt je nutné brát v úvahu zejména při analýze hemolytických vzorků.

## Metodika

Datový soubor obsahoval 64 vzorků od fyziologických až po silně patologické, tj. vzorků pacientů na antikoagulační léčbě (warfarin, heparin, fraxiparin). Žilní krev se odebírala do zkumavek značky Sarstedt s 3,2% citrátem sodným.

Plazma se připravila centrifugací po dobu 7 minut při 2 500 g a následně vyšetřila na obou analyzátořech, tj. **cobas t 511** a **CS-5100**. Na přístroji **CoaguChek® Pro II** se analyzovala žilní krev odebraná do zkumavek značky Sarstedt bez protisrážlivého činidla.





Vzorky byly analyzovány na Oddělení klinické hematologie Ústavu laboratorní diagnostiky ve Fakultní nemocnici Ostrava v období 12/2018–04/2019. U všech vzorků se vyšetřoval PT-INR a aPTT.

Grafické a statistické vyhodnocení se provedlo pomocí statistického softwaru MedCalc, verze 18.2.1, (Passing-Bablokova regresní analýza, Bland-Altmanův rozdílový diagram). Vyloučily se extrémně odlehle hodnoty, popř. vzorky, u kterých z nějakého důvodu chyběl výsledek. Počty dat v souborech se proto liší. Toto se doplnilo o deskriptivní statistiku. Nakonec se provedl výpočet procentuálních odchylek měření  $D_i$  (%) pro PT-INR, které se porovnály s povolenými

odchylkami měření  $D_{\max}$  (%) uváděnými firmou SEKK.

### Výsledek a diskuse

Protrombinový test (PT-INR) byl změřen celkem u 64 vzorků, z tohoto počtu bylo pro vyhodnocení použito 62 vzorků. Dva vzorky musely být vyloučeny z důvodu výrazně odlehlejších hodnot výsledků. Passing-Bablokův graf regresní závislosti a Bland-Altmanův diagram jsou znázorněny na obr. č. 4 a 5 pro první porovnávanou dvojici (Sysmex CS-5100 a CoaguChek® Pro II), resp. na obr. č. 6 a 7 pro druhou porovnávanou dvojici (cobas t 511 a CoaguChek® Pro II).

| PT-INR (-)                                 | Sysmex CS-5100   | cobas t 511      | CoaguChek® Pro II |
|--------------------------------------------|------------------|------------------|-------------------|
| <b>Deskriptivní statistika:</b>            |                  |                  |                   |
| N                                          | 62               | 62               | 62                |
| Medián                                     | 1,12             | 1,19             | 1,2               |
| SD                                         | 1,25             | 1,26             | 1,17              |
| MIN                                        | 0,93             | 0,95             | 0,9               |
| MAX                                        | 7,92             | 8,00             | 7,0               |
| <b>Passing-Bablokova regresní analýza:</b> |                  |                  |                   |
| Úsek A                                     | -0,117           | -0,053           | -                 |
| 95% IS úseku                               | -0,197 až -0,036 | -0,111 až -0,007 | -                 |
| Směrnice B                                 | 1,111            | 1,011            | -                 |
| 95% IS směrnice                            | 1,039 až 1,165   | 0,977 až 1,053   | -                 |
| Korelační koeficient                       | 0,945            | 0,947            | -                 |

▲ Tab. č. 5: Deskriptivní statistika a Passing-Bablokova regresní analýza PT-INR

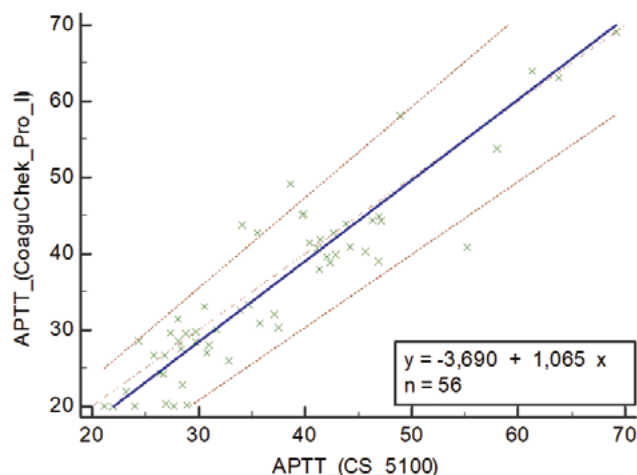
| aPTT (s)                                   | Sysmex CS-5100     | cobas t 511       | CoaguChek® Pro II |
|--------------------------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
| <b>Deskriptivní statistika:</b>            |                    |                   |                   |
| N                                          | 56                 | 56                | 56                |
| Medián                                     | 35,1               | 35,2              | 32,8              |
| SD                                         | 10,86              | 10,11             | 11,68             |
| MIN                                        | 21,1               | 21,1              | 20,0              |
| MAX                                        | 69,2               | 68,2              | 69,2              |
| <b>Passing-Bablokova regresní analýza:</b> |                    |                   |                   |
| Úsek A                                     | -3,690             | -6,600            | -                 |
| 95% IS úseku                               | -8,0275 až -0,0476 | -10,636 až -1,522 | -                 |
| Směrnice B                                 | 1,0651             | 1,1667            | -                 |
| 95% IS směrnice                            | 0,958 až 1,187     | 1,0400 až 1,310   | -                 |
| Korelační koeficient                       | 0,881              | 0,901             | -                 |

▲ Tab. č. 6: Deskriptivní statistika a Passing-Bablokova regresní analýza aPTT (s)

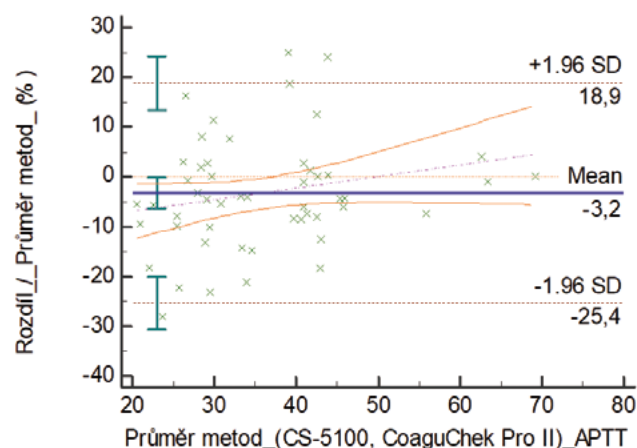
Tabulka č. 5 obsahuje deskriptivní statistiku a parametry Passing-Bablokovy regresní analýzy PT-INR. Hodnoty parametrů mezi oběma analyzátory a POCT přístrojem CoaguChek® Pro II se výrazně neliší (např. vypočten medián 1,12 pro Sysmex CS-5100, dále 1,19 pro cobas t 511 a 1,2 pro CoaguChek® Pro II). Byla zjištěna statistická významnost úseku (systematická chyba) u obou porovnávaných dvojic. Naopak statistická významnost směrnice (proporcionální chyba) byla zjištěna jen u dvojice CS-5100 a CoaguChek® Pro II. Je možné říci, že ideálnímu průběhu regresní závislosti, tj. rovnici  $y = x$ , se více přibližuje dvojice cobas t 511 a CoaguChek® Pro II. Dále byly vypočítány procentuální odchylky měření, které u 100 % porovnávaných dvojic Sysmex CS-5100 a CoaguChek® Pro II, resp. u 96,8 % pro cobas t 511 a CoaguChek® Pro II, byly menší než deklarovaná hodnota ( $D_{\max} = 20\%$  dle SEKK). Klinicky tedy není významný rozdíl ve výsledcích porovnávaných dvojic. Výsledky PT-INR mezi analyzátory Sysmex CS-5100, cobas t 511 a POCT přístrojem CoaguChek® Pro II se příliš neliší, což potvrzují i hodnoty korelačních koeficientů blíží se 1,0 (0,945, resp. 0,947). Je nutné zdůraznit, že určitou chybu do vyhodnocení vnáší také skutečnost, že CoaguChek® Pro II zaokrouhluje výsledky PT-INR pouze na jedno desetinné místo.

Aktivovaný parciální tromboplastinový test (aPTT) byl změřen celkem u 56 vzorků. Všechna data byla použita pro vyhodnocení. Passing-Bablokův graf regresní závislosti a Bland-Altmanův diagram jsou znázorněny na obr. č. 8 a 9 pro první porovnávanou dvojici (Sysmex CS-5100 a CoaguChek® Pro II), resp. na obr. č. 10 a 11 pro druhou porovnávanou dvojici (cobas t 511 a CoaguChek® Pro II).

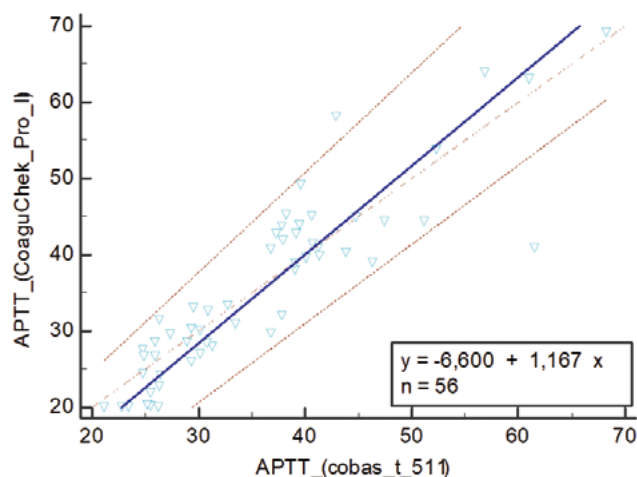
Tabulka č. 6 popisuje deskriptivní statistiku a parametry Passing-Bablokovy regresní analýzy aPTT. Hodnoty parametrů



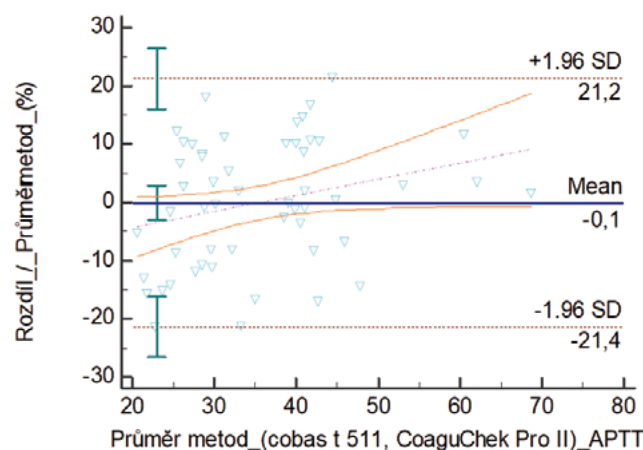
▲ Obr. č. 8: Passing-Bablokův diagram pro aPTT (s) (CS-5100 a CoaguChek® Pro II)



▲ Obr. č. 9: Bland-Altmanův diagram pro aPTT (s) (CS-5100 a CoaguChek® Pro II)



▲ Obr. č. 10: Passing-Bablokův diagram pro aPTT(s) (cobas t 511 a CoaguChek® Pro II)



▲ Obr. č. 11: Bland-Altmanův diagram pro aPTT(s) (cobas t 511 a CoaguChek® Pro II)

mezi oběma analyzátoři a POCT přístrojem **CoaguChek® Pro II** se výrazně neliší (např. vypočten medián 35,1 sekundy pro **Sysmex CS-5100**, 35,2 sekundy pro **cobas t 511** a 32,8 sekundy pro **CoaguChek® Pro II**). Opět byla zjištěna statistická významnost úseku (systematická chyba) u obou porovnávaných dvojic. Naopak statistická významnost směrnice (proporcionální chyba) byla zjištěna jen u dvojice **cobas t 511** a **CoaguChek® Pro II**. Je možné říci, že ideálnímu průběhu regresní závislosti, tj. rovnici  $y = x$ , se tentokrát více přibližuje dvojice **CS-5100** a **CoaguChek® Pro II**.

Vzhledem k tomu, že firma SEKK neustanovuje pro výsledky aPTT vyjádřené v sekundách hodnotu  $D_{max}$ , není v Bland-Altmanově grafu zobrazena. Je nutné zdůraznit, že **CoaguChek® Pro II** vydává výsledky aPTT pouze v sekundách. Pro hodnocení aPTT by bylo jistě výhodnější vyjádření výsledků aPTT jako poměru času pacienta a času normálu. Výsledky aPTT mezi analyzátoři **Sysmex CS-5100**, **cobas t 511** a POCT přístrojem **CoaguChek® Pro II** korelují méně než výsledky PT-INR. To potvrzují i nižší hodnoty korelačních koeficientů (0,881, resp. 0,901). Vyhodnocení aPTT bylo

negativně ovlivněno porovnáním výsledků uvedených v sekundách a také různým složením reagentů, které byly pro analýzy použity. Tyto dva faktory způsobily do jisté míry pozorovanou heterogenitu výsledků.

## Externí hodnocení kvality

Pracoviště se zúčastnilo externího hodnocení kvality cyklu INRP1/19 – Měření INR systémy POCT firmy SEKK. Výsledky kontrolních vzorků se nacházely v povoleném intervalu a pracoviště získalo



**SEKK**  
SEKK s.r.o., Divize EHK, Za Pasáží 1609, 530 02 Pardubice, Česká republika  
Poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7004 akreditovaný ČIA dle ČSN EN ISO/IEC 17043.  
Podrobnosti o předmětu a rozsahu akreditace naleznete na <http://www.sekk.cz>

**Z 7004** R219

### VÝSLEDKOVÝ LIST (kvantitativní výsledky)

Cyklus EHK: INRP1/19 - Měření INR systémy POCT  
Stop termín (uzávěrka cyklu EHK): 28.02.2019  
Odborná garance: Česká hematologická společnost ČLS J.E.P.  
Referenční laboratoř pro metody hemokoagulační  
Účastník: Fakultní nemocnice Ostrava, Ústav laboratorní diagnostiky, Oddělení klinické hematologie  
17. listopadu 1790/5, 708 52 Ostrava IČ: 00843989  
Ing. Martin Pulcer, Ph.D.

**Legenda:** Vz. ... vzorek  
VU ... výsledky účastníka  
Dma[%] ... přibližný rozdíl v procentech  
C ... celkové hodnocení zkoušky  
+ ... úspěšná zkouška  
- ... neúspěšná zkouška  
# ... nehodnoceno  
AV ... vzátní hodnota  
LL ... dolní mez  
UL ... horní mez  
D[%] ... rozdíl v procentech (VU a AV)

| Zkouška                        | jednotka          | Základní informace, upozornění a zkouška uvadí účastník | Srovnatelnost | Úspěšnost za 2 roky |      |       |      |       |           |
|--------------------------------|-------------------|---------------------------------------------------------|---------------|---------------------|------|-------|------|-------|-----------|
| Vz.                            | Hodnocená skupina | VU                                                      | Dma[%]        | C                   | AV   | LL    | UL   | D[%]  | Úspěšnost |
| Protrombinový test (CoaguChek) | -                 | 1,5                                                     | 204           | +                   | 1,51 | 1,2   | 1,82 | -0,66 | 100%      |
| AI Všechny výsledky            | 3                 | 204                                                     | 2,03          | 2,42                | 3,64 | -0,99 |      |       |           |

Vale celkové úspěšnosti v jednotlivých cyklech tohoto programu za poslední 2 roky: R219  
2019: INRP1 = 100%

Vale celková úspěšnost v tomto programu za poslední 2 roky: 100 % (počet hodnocených zkoušek: 1)

Vytisknout 11.03.2019, souhrnné vyhodnocení výsledků naleznete na <http://www.sekk.cz>

Strana: 1

**SEKK**  
SEKK s.r.o., Divize EHK, Za Pasáží 1609, 530 02 Pardubice, Česká republika  
Poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7004 akreditovaný ČIA dle ČSN EN ISO/IEC 17043.  
Podrobnosti o předmětu a rozsahu akreditace naleznete na <http://www.sekk.cz>

**Z 7004** R219

### OSVĚDČENÍ O ÚČASTI

Cyklus EHK: INRP1/19 - Měření INR systémy POCT  
Stop termín (uzávěrka cyklu EHK): 28.02.2019  
Odborná garance: Česká hematologická společnost ČLS J.E.P.  
Referenční laboratoř pro metody hemokoagulační  
Účastník: Fakultní nemocnice Ostrava, Ústav laboratorní diagnostiky, Oddělení klinické hematologie  
17. listopadu 1790/5, 708 52 Ostrava IČ: 00843989  
Ing. Martin Pulcer, Ph.D.

Osvědčujeme, že výše uvedený účastník se zúčastnil cyklu externího hodnocení kvality pro následující zkoušky:  
Protrombinový test (CoaguChek)  
Interpretace hodnoty INR  
Úprava dávk  
Přítomná kontrola

Toto osvědčení platí do 29.02.2020.

Ing. Marek Budina  
ředitel společnosti SEKK

Vytisknout 11.03.2019, za věcnou správnost vyhodnocení zodpovídá SEKK

Strana: 1

▲ Obr. č. 12: Výsledkový list – Měření INR systémy POCT

▲ Obr. č. 13: Osvědčení o účasti – Měření INR systémy POCT

osvědčení o účasti. Odchylka měření byla u obou vzorků menší než 1 %, což je vynikající výsledek. Kvantitativní výsledky a osvědčení o účasti tohoto cyklu EHK zachycují obr. č. 12 a 13. Firma SEKK zatím nenabízí kontrolní vzorky pro měření aPTT na POCT přístrojích.

### Opakovatelnost měření v sérii

Dalším cílem práce bylo porovnání hodnot variačních koeficientů mezi analyzátoři a POCT přístrojem v rámci tzv. opakovatelnosti měření v sérii. Tento parametr představuje těsnost shody mezi naměřenými hodnotami veličiny získanými opakovanými měřeními v krátkém časovém intervalu na stejném objektu nebo na podobných objektech za specifických podmínek.

| PT-INR (-)        | n | Průměr | SD     | CV (%) |
|-------------------|---|--------|--------|--------|
| CS-5100           | 6 | 1,01   | 0,0090 | 0,89   |
| cobas t 511       | 6 | 1,02   | 0,0028 | 0,27   |
| CoaguChek® Pro II | 6 | 1,02   | 0,0687 | 6,74   |

▲ Tab. č. 7: Opakovatelnost měření v sérii pro PT-INR

| aPTT (s)          | n | Průměr | SD   | CV (%) |
|-------------------|---|--------|------|--------|
| CS-5100           | 6 | 31,6   | 0,23 | 0,73   |
| cobas t 511       | 6 | 30,4   | 0,09 | 0,30   |
| CoaguChek® Pro II | 6 | 29,5   | 1,73 | 5,86   |

▲ Tab. č. 8: Opakovatelnost měření v sérii pro aPTT (s)

Pro účely tohoto porovnání byl použit vybraný fyziologický vzorek, který byl postupně změřen na obou analyzátořích a přístroji POCT šestkrát po sobě. Průměrné hodnoty výsledků, velikosti

směrodatných odchylek (SD) a variační koeficienty (CV) jsou uvedeny v tabulkách č. 7 (PT-INR) a č. 8 (aPTT). U obou testů byly hodnoty CV získané měřeními na koagulačních analyzátořích



výrazně nižší než u POCT, což potvrdilo náš vstupní předpoklad, že POCT přístroje mají obecně horší výkonnosti charakteristiky.

### Závěr

I přes rozdílné složení reagensií a specifické provozní možnosti analyzátorů **cobas t 511**, **Sysmex CS-5100** a přístroje POCT **CoaguChek® Pro II** byla zjištěna velmi dobrá mezipřístrojová porovnatelnost výsledků. Závěry statistického a grafického vyhodnocení svědčí pro vysokou korelaci mezi výsledky PT-INR i APTT, a to i v oblastech velmi patologických hodnot.



### Ing. Martin Pulcer, Ph.D., MBA

Oddělení klinické hematologie Ústavu laboratorní diagnostiky Fakultní nemocnice Ostrava a Katedra biomedicínských oborů Lékařské fakulty Ostravské univerzity, 17. listopadu 1790, Ostrava-Poruba

Kontakt: martin.pulcer@fno.cz

V roce 2005 nastoupil do hematologické laboratoře v Městské nemocnici Ostrava, kde strávil více než 10 let v oboru laboratorní hematologie a transfúzní služba. Od roku 2016 pracuje jako primář Oddělení klinické hematologie Ústavu laboratorní diagnostiky ve FN Ostrava.

Svůj volný čas věnuje především svým třem dětem a manželce. Mnoho času na koníčky už nezbývá, přesto se příležitostně věnuje rybolovu na vodních nádržích a ze sportovních aktivit v létě zejména tenisu a v zimě lyžování.

### LITERATURA

- PENKA, Miroslav a Eva SLAVÍČKOVÁ. *Hematologie a transfúzní lékařství*. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-3459-0.
- BAIN, Barbara J. *Dacie and Lewis practical haematology*. 11th ed. Philadelphia: Elsevier – Churchill Livingstone, 2012. ISBN 978-0-7020-3408-4.
- PECKA, Miroslav. *Laboratorní hematologie v přehledu*. Český Těšín: FINIDR, 2006. ISBN 80-866-8200-5.
- Doporučení k výpočtu nejistot kvantitativních výsledků měření v klinických laboratořích, datum vydání 11.11.2014. Dostupné z: [www.sekk.cz](http://www.sekk.cz)
- PENKA, Miroslav a Alena BULIKOVÁ. *Neonkologická hematologie*. 2., dopl. a zcela přeprac. vyd. Praha: Grada, 2009. ISBN 978-802-4722-993.
- PECKA, Miroslav. *Laboratorní hematologie v přehledu*. Svazek 3. Český Těšín: Finidr, 2004. ISBN 80-866-8203-X.
- ZIMA, Tomáš. *Laboratorní diagnostika*. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, c2007. ISBN 978-80-7262-372-3.
- PECKA, Miroslav a Milan BLÁHA. *Praktická hematologie: laboratorní metody*. Český Těšín: Infiniti art, 2010. ISBN 978-80-903871-9-5.
- POCT – Point of care testing. Podpora efektivní spolupráce biomedicínských oborů MU a VUT Brno s účastí aplikační sféry 2009–2012 [online]. Brno, 2011 [cit. 2018-10-13]. Dostupné z: <http://www.med.muni.cz/pes/index.php?id=1187>
- Správné zavádění a používání prostředků POCT. ČSKB, 2011.
- Automated Blood Coagulation Analyzer CS-5100 Návod k použití. Sysmex Corporation, Kobe, Japonsko, 2014.
- cobas t 511 coagulation analyzer: User Guide. 1. Roche Diagnostics GmbH, 2017.
- cobas t 711 coagulation analyzer: Uživatelská příručka. 2. Roche Diagnostics GmbH, 2018.
- CoaguChek® Pro II: Uživatelská příručka. 2. Roche Diagnostics GmbH, 2016.
- Passing-Bablok regression. MedCalc [online]. Ostend: MedCalc Software [cit. 2019-04-02]. Dostupné z: [https://www.medcalc.org/manual/passing-bablok\\_regression.php](https://www.medcalc.org/manual/passing-bablok_regression.php)
- Bland-Altman plot. MedCalc [online]. Ostend: MedCalc Software [cit. 2019-04-02]. Dostupné z: <https://www.medcalc.org/manual/blandaltman.php>
- Dmax – přijatelné rozdíly v procentech: Přehled přijatelných rozdílů v procentech pro kvantitativní zkoušky EHK. Pardubice: SEKK, 2018.
- Srovnání naměřených výsledků INR a aPTT přístrojem CoaguChek® Pro II. Labor Aktuell [online]. 2018, 18(1), 3 [cit. 2019-04-08]. Dostupné z: [http://www.roche-diagnostics.cz/content/dam/diagnostics\\_czechrepublic/cs\\_CZ/documents/Labor\\_Aktuell/LA2018/LA0118/Srovnani%20INR%20a%20aPTT\\_Kvasnicka.pdf](http://www.roche-diagnostics.cz/content/dam/diagnostics_czechrepublic/cs_CZ/documents/Labor_Aktuell/LA2018/LA0118/Srovnani%20INR%20a%20aPTT_Kvasnicka.pdf)
- Point of care PT and aPTT in patients with suspected deficiencies of coagulation factors. International Journal of Laboratory Hematology [online]. 2016, 38(4), 9 [cit. 2019-04-08]. DOI: <https://doi.org/10.1111/ijlh.12519>. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ijlh.12519>





Na podzim loňského roku naše brněnská histopatologická laboratoř MDgK - plus, spol. s r.o., s podporou firmy Roche s.r.o. významně přispěla k edukaci histopatologických laborantek vydáním skript ZÁKLADNÍ IMUNOHISTOCHEMICKÉ METODY. Autorkami skript jsou laborantky z naší laboratoře MDgK - plus, spol. s r.o., Dana Střítecká a Lucie Jeřábková, Dis., obě s mnoholetými, bohatými a hlavně praktickými zkušenostmi v této oblasti.

## Nový pomocník pro laboranty – skripta pro IHC praxi

**PharmDr. ALEŠ ZIMA, Ph.D.**

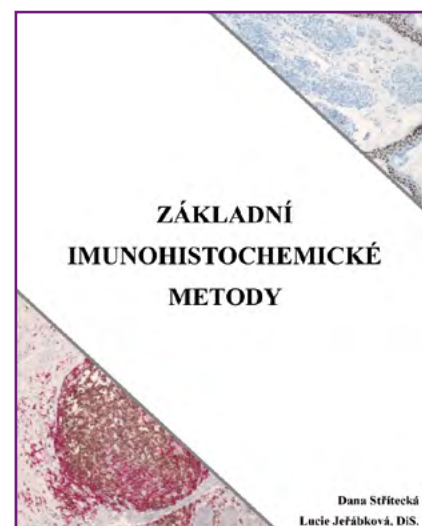
*MDgK - plus, spol. s r.o., Vaše laboratoře s.r.o.*

A co autorky k přípravě tohoto materiálu vedlo? „Na základě našich dlouholetých zkušeností, ale i útrap s imunohistochemií (IHC) jsme došli k názoru, že by kolegyně a kolegové z IHC laboratoří uvítali právě takového průvodce (manuál) rutinní praxi,“ vysvětlily své pohnutky Dana Střítecká a Lucie Jeřábková. „Skripta jsou tak určena zejména pro histopatologické laborantky a laboranty na začátku laboratorní praxe, jsou informačním a edukačním zdrojem a v neposlední řadě mohou posloužit jako zdroj informací a možných postupů při zavádění nových metod a užití nových protilátek.“

Nová skripta nejsou svojí podstatou zaměřena na teoretická fakta o imunohistochemii a imunohistochemickém barvení samotném. V tomto směru je v nabídce na trhu s odbornou literaturou dostatečný počet titulů. Autorky se proto orientovaly především na praxi, na praktické popisy postupů. Skripta obsahují postupy nečastějších IHC barvení používaných na většině histologických pracovišť. Jednotlivé postupy jsou dále obohaceny o osobní zkušenosti a rady. Součástí skript je také samostatná tabulka s protokoly (postup barvení) méně

používaných protilátek. Uváděné protokoly jsou v laboratoři MDgK - plus optimalizovány nejen pro manuální postupy vyšetření za použití vodní lázně a pufrů pH6 a pH9, ale také pro automatické zpracování v IHC barvicím automatu Ventana BenchMark Ultra. K jednotlivým postupům autorky přidaly své praktické zkušenosti s použitými protilátkami, úpravou a nastavením vyšetřovacích metod, s přípravou vzorků před IHC analýzou a v neposlední řadě s finální úpravou vyšetřovaného vzorku. Ve skriptech jsou rovněž popsány optimalizované protokoly pro imunohistochemická fluorescenční vyšetření z oblasti dermatopatologie, vyšetření protilátky TTF-1 z peroperačních biopsií a několik typů na duální barvení. Drtivá většina postupů uvedených ve skriptech je akreditovaná ČIA (Český institut pro akreditaci, o.p.s.) a pravidelně kontrolovaná a ověřovaná systémem IKK (interní kontrola kvality) a verifikačními protokoly.

Veškerá použitá fotodokumentace IHC preparátů pochází z databáze laboratoře MDgK - plus, fotodokumentace imuno fluorescenčních preparátů pochází



z Atlasu dermatopatologie doc. MUDr. Josefa Feita, CSc.

A co bylo dalším podnětem k vydání skript? „Byla to naše znalost systému vzdělávání v rámci studia SŠ, VOŠ a také atestací z oboru histologie,“ uvedly autorky. „Do žádného z uvedených oborů není zakomponovaná praktická výuka IHC laborantek s lékařem přímo u mikroskopu (vizuální hodnocení kvality barvení atd.). Laborantky se poté v „ostrém“ provozu bez takové praxe setkávají s problémem, jak má správně vypadat výsledek barvení, které struktury v tom daném preparátu mají být pozitivní, a dalšími. Je však nutné připomenout, že uvedené protokoly jsou optimalizované v podmínkách naší laboratoře a pro použití v bioptické diagnostice jiných laboratoří je nutné je validovat dle postupů platných v konkrétní laboratoři.“

Věříme, že se skripta našich zkušených laborantek stanou přínosem a pomohou nejen při zavádění nových metod, ale v případě potřeby budou nápomocna jak našim mladým, tak i všem dalším kolegům v oboru.



### **PharmDr. Aleš Zima, Ph.D.**

MDgK - plus, spol. s r.o., člen skupiny Vaše laboratoře s.r.o., U Lomu 638, Zlín  
Kontakt: zima@vaselaboratore.cz

Absolvent VFU FaF Brno, kde do roku 2010 v rámci svého Ph.D. studia působil na Ústavu přírodních léčiv. V rámci doktorské práce se zabýval biologickou aktivitou přírodních látek. V laboratorní diagnostice pracuje od roku 2010. V letech 2014–2017 působil v Roche Diagnostics na obchodní a aplikační pozici zejména v oblastech patologie a molekulární biologie. Nyní pracuje jako obchodní ředitel skupiny laboratoří vaselaboratore.cz a jako provozní ředitel histopatologické laboratoře MDgK - plus, spol. s r.o., jež je součástí zmíněné skupiny.



Test cobas® CMV na systému cobas® 4800 je navržen pro efektivní poskytování standardizovaných, klinicky ověřených výsledků. Jedná se o in vitro amplifikační test nukleové kyseliny pro kvantitativní měření DNA cytomegaloviru (CMV) v lidské EDTA plazmě. Je určen k použití jako pomůcka pro diagnózu a léčbu CMV u pacientů s transplantací orgánů a u pacientů s transplantací hematopoetických kmenových buněk. U těchto populací lze tímto testem stanovit, zda je potřeba zahájit antivirovou léčbu. U pacientů na anti-CMV terapii je možné sériová měření DNA použít ke stanovení virové odpovědi na léčbu. Výsledky testu cobas® CMV je třeba interpretovat v kontextu všech relevantních klinických a laboratorních nálezů.<sup>6</sup>

## Test cobas® CMV na systému cobas® 4800

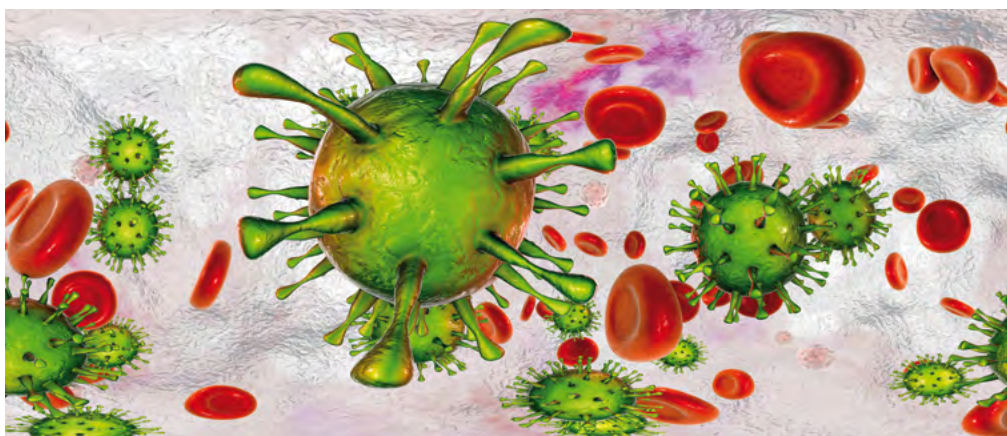
**MUDr. IGOR BLANÁRIK**

*emeritní marketingový manažer pro molekulární diagnostiku, ROCHE s.r.o., Diagnostics Division*

Cytomegalovirus (CMV) je běžný virus nalezený u lidí všech věkových kategorií, přičemž více než polovina všech dospělých byla nakažena do 40. roku věku.<sup>1</sup> CMV přetrvává latentně po celý život a může být reaktivován. I když virus obecně nezpůsobuje problémy osobám se zdravým, fungujícím imunitním systémem, může mít závažné následky pro lidi s oslabeným imunitním systémem.

Infekce CMV je hlavní příčinou morbidity a mortality u pacientů po transplantaci. Kalibrace a hlášení virové zátěže CMV DNA v mezinárodních jednotkách na mililitr (IU/ml) zlepšilo harmonizaci výsledků z různých laboratoří. Řízení aktivní infekce CMV je však stále omezo-  
vováno nedostatečnou komutabilitou

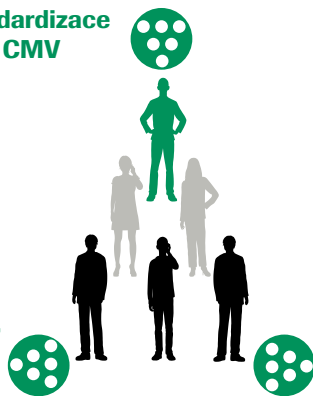
výsledků mezi referenčními materiály a klinickými vzorky a následným nedostatkem prahových hodnot virové zátěže založených na důkazech. Komutabilita je schopnost referenčního materiálu (kalibrátoru, kontrolního materiálu) vykazovat při měření a při hodnocení kvality stejné chování jako analytické vzorky. Nedostatek komutability vede k chybným výsledkům měření a k chybným závěrům o kvalitě analytické činnosti. Současné laboratorně vyvinuté metody kvantifikace CMV DNA jsou omezeny nedostatkem standardizovaných výsledků, což může vést k vysoké variabilitě mezi jednotlivými laboratořemi a testy. Laboratorní metody diagnózy u lidského CMV zahrnují izolaci viru kultivací z periferních krevních leukocytů (PBL), histologii biopsií, sérologická vyšetření, měření hodnot antigenu pp65 v krvi a detekci CMV DNA pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR). Sérologie má význam pouze pro zjištění, zda byl pacient dříve infikován CMV a podléhá riziku reaktive. Metody založené na kultivaci mají nízkou prediktivní hodnotu, doba jejich provedení





### Nedostatečná standardizace testů virové nálože CMV

### Významné riziko morbidity, ztráty transplantačního štěpu a mortality u CMV



### Rozdíly ve výsledcích virové nálože CMV mezi laboratořemi

přesahuje 48 hodin a mají omezené použití zvláště u imunokompromitovaných pacientů. Test antigenu pp65 v krvi je pracný a kvůli snižování hladiny antigenu v krvi při skladování vyžaduje zpracování krve do šesti hodin od odběru. Test pp65 lze také obtížně provádět u pacientů s neutropenií. Přímá detekce CMV DNA, např. metodami PCR v reálném čase, potenciálně nabízí široký dynamický rozsah, přesnost a vysokou citlivost.

U přibližně 20–60 % příjemců transplantací orgánů se rozvine symptomatická infekce CMV, obvykle během prvních několika měsíců po transplantaci.<sup>2</sup> Pacienti mohou být infikováni dárcovským orgánem nebo může být virus reaktivován, pokud byl dříve přítomen.

Reaktivaci CMV po transplantaci lze rychle detekovat a léčit pomocí antivirotik. Pokud jde o úspěšné zvládnutí infekce a možnost pacientů po transplantaci prožít dlouhodobý, zdravý život, hraje zásadní roli spolehlivost výsledků testů.

Test **cobas**® CMV umožňuje detekci a kvantifikaci CMV DNA, který se shoduje s 1. mezinárodním standardem WHO pro lidský CMV v EDTA plazmě infikovaných pacientů.<sup>5</sup> Virová nálož je kvantifikována pomocí kvantifikačního standardu DNA (DNA QS) jiného původu, než je CMV, který je do každého vzorku přidán během přípravy. Standard DNA QS slouží také k monitorování celého procesu přípravy vzorku a PCR amplifikace. Test navíc využívá tři externí kontroly: pozitivní kontrolu s vysokým titrem, pozitivní kontrolu s nízkým titrem a negativní kontrolu.<sup>6</sup>

Test **cobas**® CMV se zakládá na plně automatizované přípravě vzorků (extrakce a purifikace nukleové kyseliny) s následnou PCR amplifikací a detekcí. Systém **cobas**® 4800 sestává z přístroje **cobas x 480** a analyzátoru **cobas z 480**. Software systému **cobas**® 4800 provádí automatizované zpracování dat, při kterém přiřazuje kategorii „Target not detected“ (cílová sekvence nedetekována)

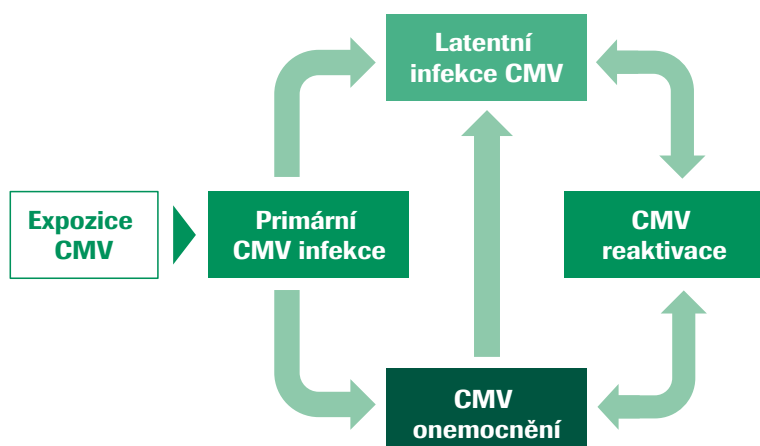
výsledkům < LLoQ, below lower limit of quantitation (pod dolní mezí kvantifikace), nebo > ULoQ, above upper limit of quantitation (nad horní mezí kvantifikace); anebo kategorii „CMV DNA detected“ (detekována DNA viru CMV) s hodnotou v lineárním rozmezí  $LLoQ \leq x \leq ULoQ$ . Výsledky lze prohlížet přímo na obrazovce systému, exportovat nebo vytisknout jako zprávu.<sup>6</sup>

Výsledky jsou v IU/ml, což je v souladu s doporučeními pro optimalizaci řízení CMV. Systém zjednodušuje a standardizuje operace s minimálními zásahy uživatele a prodlouženou dobou bez nutnosti zásahu až na 3 hodiny, s WHO kalibrovanými reagensii připravenými k okamžitému použití. V laboratoři není nutné provádět žádné kalibrace ani rozpouštění reagensií a kontrol.<sup>3,4</sup> Výsledky jsou k dispozici za 4 hodiny a 20 minut.

Krev se odebírá do zkumavek pro přípravu plazmy BD Vacutainer® PPT™ nebo zkumavek s víčky levandulové barvy pro molekulární diagnostické testovací metody nebo do sterilních zkumavek za použití EDTA jako antikoagulantu.

Objem pro zpracování vzorku systémem **cobas**® CMV je pouze 400 µl.

Mez detekce (Limit of detection, LoD) testu **cobas**® CMV pro EDTA plazmu je 34,5 IU/ml, lineární rozmezí testu **cobas**® CMV je 34,5 až 1,0 E+07 IU/ml.



*Monitorování virové nálože CMV je klíčovou součástí kontinuální péče při CMV onemocnění; od prognózy k léčbě*



Účinnost testu **cobas**® CMV u různých genotypů CMV byla vyhodnocena pomocí:

- Verifikace meze detekce u genotypů 2 až 4 pro glykoprotein B
- Verifikace lineárního rozmezí u genotypů 2 až 4

Výsledky ověřily, že test **cobas**® CMV detekoval CMV DNA pro tři různé genotypy při koncentraci 34,5 IU/ml s úspěšností detekce  $\geq 95\%$ .

Účinnost testu **cobas**® CMV u vzorků CMV rezistentních vůči léčivům byla vyhodnocena pomocí:

- Verifikace meze detekce u vzorků CMV rezistentních vůči léčivům (rezistence vůči gancikloviru, valgancikloviru, cidofoviru nebo foskarnetu)
- Verifikace lineárního rozmezí u vzorků CMV rezistentních vůči léčivům (rezistence vůči gancikloviru, valgancikloviru, cidofoviru nebo foskarnetu)

Test **cobas**® CMV detekoval DNA CMV pro všechny testované vzorky rezistentní na běžné léky na CMV při koncentracích 34,5 IU/ml s úspěšností detekce  $\geq 95\%$ .

Společnost Roche je odhodlána pomáhat zabránit šíření a reaktivaci cytomegaloviru

## Víte, že...

Kromě portfolia infekčních markerů Roche pro transplantační centra nabízí testy imunosupresiv:

- Cyklosporin (**cobas e**)
- Takrolimus (**cobas e**)
- Sirolimus (**cobas e**)
- Everolimus (**cobas e**)
- Kyselina mykofenolová (**cobas c 50x**, COBAS INTEGRA® **400 plus**)

Potřebujete-li více informací, kontaktujte nás na **prague.marketing\_propagace@roche.com**

### Hlavní parametry testu<sup>6</sup>

|                                     |                                                                                    |
|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Typ vzorku                          | EDTA plazma                                                                        |
| Objem pro zpracování vzorku         | 400 µl                                                                             |
| Analytická citlivost                | 34,5 IU/ml                                                                         |
| Lineární rozmezí                    | 34,5 IU/ml – 1,0E+07 IU/ml                                                         |
| Specifita                           | 100 %                                                                              |
| Detekované genotypy                 | CMV genotyp 1–4 pro glykoprotein B                                                 |
| Vzorky CMV rezistentní vůči léčivům | Vzorky CMV rezistentní vůči gancikloviru, valgancikloviru, cidofoviru a foskarnetu |

a poskytuje standardizované testy podle doporučení WHO pro detekci a monitorování progresu CMV infekcí.

Test **cobas**® CMV přináší transplantační komunitě standardizaci při testování a výdeji výsledků pro optimální řízení CMV infekce. Vede laboratoře ke

standardizovanému použití typu vzorku (plazma) a vykazování výsledků v IU/ml. Jedná se o první komerční test standardizovaný podle mezinárodního standardu WHO, s certifikátem CE i FDA. Nabízí tak alternativu k laboratorně vyvinutým testům (LDT) se sníženou pracností a bez rizika nesprávných výsledků.



### MUDr. Igor Blanarik

Emeritní marketingový manažer pro molekulární diagnostiku, ROCHE s.r.o., Diagnostics Division

Kontakt: igor.blanarik@gmail.com

Absolvent LFUK v Bratislavě v roce 1977. Atestace z vnitřního lékařství a klinické biochemie. Primář OKB na Ústavu klinické onkologie sv. Alžběty v Bratislavě, od roku 1997 produktový a aplikační specialista a následně marketingový manažer pro molekulární diagnostiku Roche Diagnostics Division. V současnosti se v důchodu věnuje svým koníčkům: studiu kvantové biologie a biochemie, čtení odborné a klasické literatury, klasické hudbě, divadlu a práci s dětmi.

## LITERATURA

1. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Cytomegalovirus (CMV) and Congenital CMV Infection. <http://www.cdc.gov/cmv/index.html>. Accessed Nov 3, 2016.
2. Emovon OE, Baillie GM, Rajagopalan PR, Chavin, KD. Infections after kidney transplantation. CME Coverage, based on Renal Week 2002: American Society of Nephrology 35th Annual Meeting. <http://www.medscape.com/viewarticle/445262>. Accessed December 13, 2016. Medscape Transplantation. 2002.
3. Razonable RR, Åsberg A, Rollag H, et al. Virologic suppression measured by a cytomegalovirus (CMV) DNA test calibrated to the world health organization international standard is predictive of CMV disease resolution in transplant recipients. Clin Infect Dis. 2013; 56: 1546–1553.
4. Åsberg A, Humar A, Rollag H, et al. Oral Valganciclovir Is Noninferior to Intravenous Ganciclovir for the Treatment of Cytomegalovirus Disease in Solid Organ Transplant Recipients. Am J of Transplant. 2007; 7: 2106–2113.
5. Hayden RT, Preiksaitis J, Tong Y, et al. Commutability of the First World Health Organization International Standard for Human Cytomegalovirus. J Clin Microbiol. 2015; 53: 3325–3333.
6. Příbalový leták k testu cobas® CMV na systému cobas® 4800.





Podle posledních odhadů jsou virem hepatitidy C infikovány přibližně 3 % světové populace. HCV infekce jako nejčastější příčina jaterních onemocnění ve vyspělých zemích světa představuje značné problémy jak terapeutické, tak ekonomické a současně znamená i velkou výzvu pro výrobce diagnostických technologií ke zdokonalení dosavadních testovacích možností.

## Možnosti testování HCV infekce – NAT, nebo antigen?

Mgr. PETRA TRACHTULCOVÁ, Ph.D.

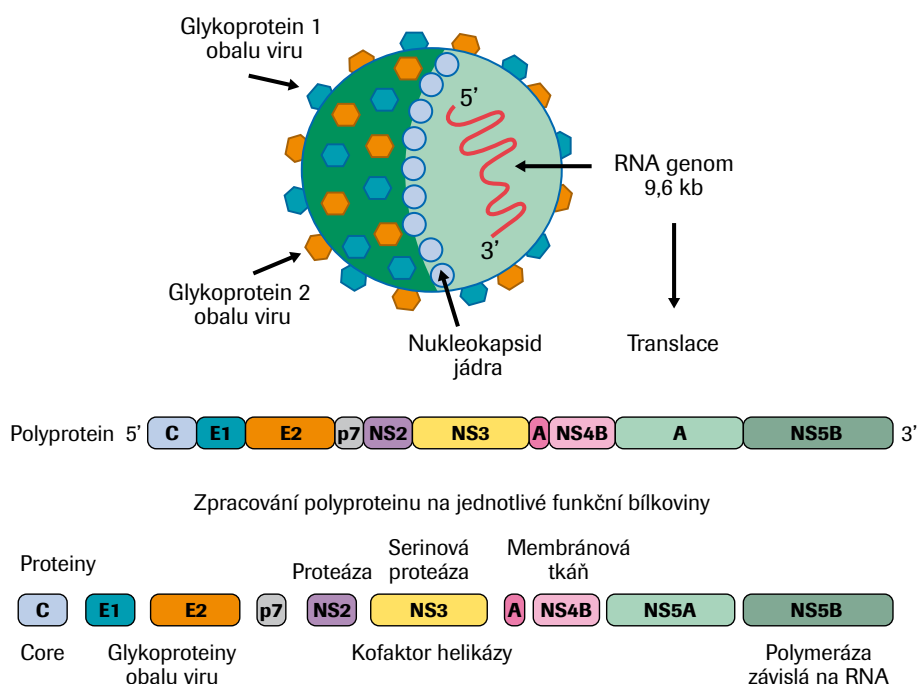
ROCHE s.r.o., Diagnostics Division

Virus hepatitidy C (HCV) je malý obalený virus patří do čeledi Flaviridae. HCV byl identifikován až v roce 1989, přestože již od 70. let minulého století bylo zřejmé, že kromě v té době známých původců hepatitidy A a B musí existovat i další virové agens způsobující virovou hepatitidu.

Genom HCV je tvořen jednořetězcovou pozitivní RNA, která kóduje nejméně 10 různých proteinů (obr. č. 1), jednak strukturálních (core, E1, E2, p7) a jednak nestrukturálních (NS: NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B).

Virus je charakteristický vysokou variabilitou, v současné době je popsáno 7 základních genotypů, v rámci každého je pak identifikováno několik subtypů. Jednotlivé genotypy se mezi sebou liší v 30–50 % nukleotidových sekvencí a různé subtypy se liší v 15–30 % nukleotidových sekvencí.

Infekce HCV se může projevit jako akutní žloutenka typu C, ta je však diagnostikována poměrně vzácně kvůli časté absenci klinických příznaků v akutním stadiu HCV infekce. Studie o přirozeném průběhu HCV infekce dokazují, že 55–85 % pacientů, kteří se infikují virem hepatitidy C, není schopno přirozeným způsobem virus eliminovat a infekce u nich přechází do chronického stadia. U osob s chronickou infekcí HCV významně stoupá riziko rozvoje



▲ Obr. č. 1: Struktura HCV a organizace virového genomu

Upraveno dle: [https://www.researchgate.net/figure/Hepatitis-C-virus-HCV-model-structure-and-genome-organization-49-a-Model\\_fig3\\_320908322](https://www.researchgate.net/figure/Hepatitis-C-virus-HCV-model-structure-and-genome-organization-49-a-Model_fig3_320908322)



chronického jaterního onemocnění, jaterní cirhózy (5–20 %) a hepatocelulárního karcinomu (1–2 %).

Infekce virem hepatitidy C patří mezi krví přenosné infekce. Hlavními cestami šíření HCV infekce jsou:

- přenos krevními deriváty,
- injekční aplikace drog,
- tetování a piercing neprováděné za aseptických podmínek (zejména amatérsky),
- pravidelné dialyzační léčení (PDL),
- profesionální riziko expozice HCV,
- sexuální kontakt s osobou HCV pozitivní (častější mezi muži, kteří mají styk s muži),
- rodinný kontakt s osobou HCV pozitivní,
- vertikální přenos z HCV pozitivní matky na novorozence (perinatální přenos),
- iatrogenní přenos,
- přenos orgánovým štěpem před rokem 1992.

Před rokem 1992, kdy bylo zahájeno rutinní testování krevních dárců na přítomnost infekce HCV, představovalo hlavní cestu přenosu infekce přijetí infikovaného krevního derivátu. V současnosti je nejběžnější cestou šíření infekce nitrožilní aplikace drog.

Podle údajů **Pracovní skupiny pro virové hepatitidy České hepatologické společnosti ČLS JEP a Pracovní skupiny pro virové hepatitidy Společnosti infekčního lékařství ČLS JEP** byla v roce 2001 pomocí sérologického přehledu zjištěna prevalence protilátek anti-HCV v běžné populaci ČR přibližně 0,2 %. Na základě údajů o prevalenci a incidenci infekce HCV mezi prvodárci a opakovanými dárci jak v zařízeních transfuzní služby, tak v plazmaferetických centrech (viz tabulka č. 1, č. 2) je v současnosti v běžné populaci toto číslo patrně o něco vyšší.

## Testy ke zjištění HCV infekce

Průkaz infekce HCV je založen zejména na sérologických testech, které detekují přítomnost specifických protilátek proti HCV. Protilátky anti-HCV nemají neutralizační efekt, nejsou nositelem imunity organismu. Přetrvávají ve značném titru i u pacientů úspěšně vyléčených.

V mezinárodních doporučeních pro diagnostiku a léčbu virové hepatitidy C (AASLD, APASL, EASL, US CDC) jsou uvedeny přehledné algoritmy pro postup testování rizikových osob a požadavky na používané testovací soupravy. Všechna doporučení se shodují v základní ose

testovacího procesu, ve kterém po zjištění opakované reaktivity v protilátkových testech následuje konfirmační vyšetření. Pro konfirmaci infekce HCV jsou jednoznačně doporučovány testy založené na detekci HCV RNA v séru nebo v plazmě senzitivními molekulárněbiologickými metodami (doporučení EASL, AASLD, APASL, viz obr. č. 2). Jako testy vhodné pro detekci virové RNA udává doporučení EASL použití technologií s minimální hodnotou dolního detekčního limitu 15 IU/ml. Doporučení EASL současně jako náhradní řešení pro diagnostiku akutní či chronické hepatitidy C v případě nedostupnosti vhodných systémů pro NAT konfirmaci uvádí možnost testovat přítomnost core antigenu HCV. Současně však zdůrazňuje nižší senzitivitu testů detekujících core antigen HCV ve srovnání s NAT technologií (detekční limit pro testy core antigen HCV odpovídá zhruba 500–3 000 IU/ml RNA).

## Testování HCV u dárců krve

V případě testování dárců krve je v současnosti jako povinný test legislativně vyžadován pouze sérologický průkaz protilátek anti-HCV. Vzhledem k délce diagnostického okna (obr. č. 3) je však uvedený test relativně málo spolehlivý

| ČR   | HIV1/2     |           | HBV        |           | HCV        |           |
|------|------------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|
|      | PREVALENCE | INCIDENCE | PREVALENCE | INCIDENCE | PREVALENCE | INCIDENCE |
| 2016 | 4,4        | 1,1       | 28,4       | 4,2       | 244,7      | 18,9      |
| 2017 | 13,5       | 0,4       | 38,5       | 3,6       | 223,4      | 12,6      |

▲ Tab. č. 1: Incidence a prevalence ukazatelů infekcí přenosných transfuzí u dárců krve a jejich složek (na 100 tisíc vyšetření)  
Upraveno dle: Zpráva zařízení transfuzní služby v České republice v roce 2016, 2017 (pro MZ ČR).

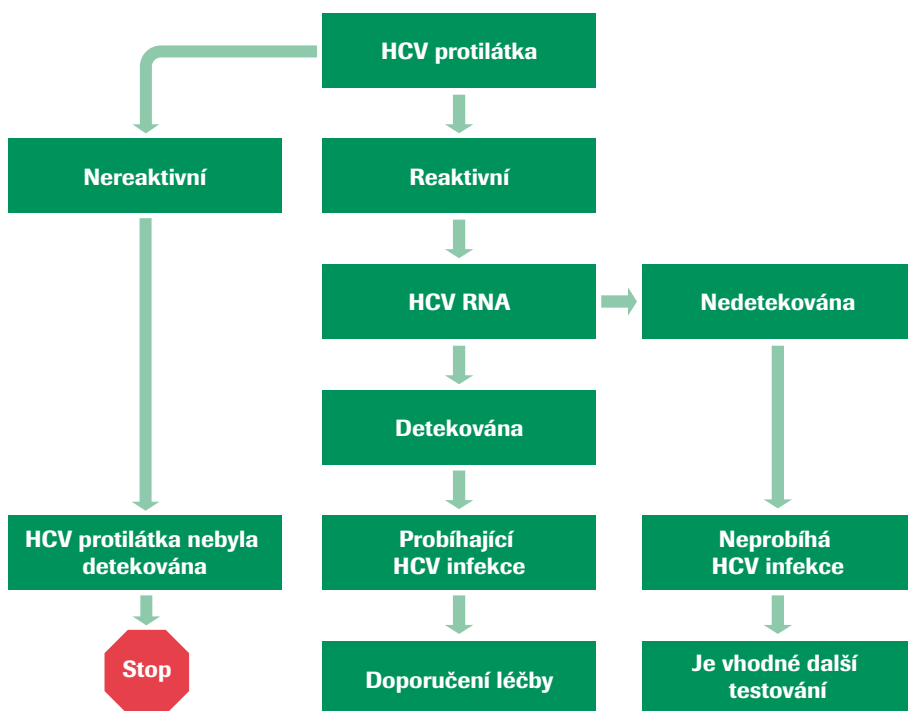
|            | HIV1/2         |                        | HBV            |                        | HCV            |                        |
|------------|----------------|------------------------|----------------|------------------------|----------------|------------------------|
|            | Nemocniční ZTS | Plazmaferetická centra | Nemocniční ZTS | Plazmaferetická centra | Nemocniční ZTS | Plazmaferetická centra |
| Incidence  | 1,28           | 1,52                   | 3,74           | 4,56                   | 2,14           | 29,48                  |
| Prevalence | 5,83           | 7,26                   | 40,13          | 55,41                  | 71,8           | 263,19                 |

▲ Tab. č. 2: Incidence a prevalence ukazatelů infekcí přenosných transfuzí u dárců nemocničních zařízení transfuzní služby a plazmaferetických center (2009–2013) (na 100 tisíc vyšetření)  
Upraveno dle: Turek, P., Masopust, J. Transfúze Hematol. dnes, 20, 2014, No. 4, p. 125–135.



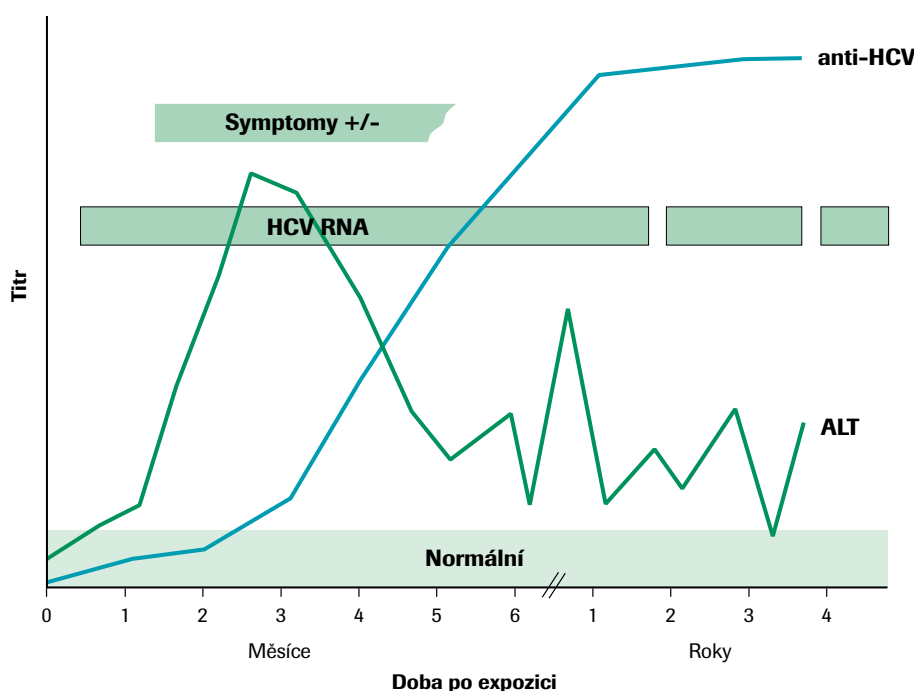
na to, aby zaručil bezpečnost krevních přípravků a krevních derivátů. V současnosti používané diagnostické sady tzv. třetí generace výrazně zkrátily délku

diagnostického okna ve srovnání s testy první a druhé generace, přesto je délka diagnostického okna odhadována na průměrně 66 dnů.



▲ Obr. č. 2: Doporučený postup pro testování infekce HCV

Upraveno dle: AASLD, <https://www.hcvguidelines.org/evaluate/testing-and-linkage>



▲ Obr. č. 3: Sérologický profil akutní HCV infekce s přechodem do chronické fáze

Upraveno dle: <https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2268&sectionid=176083301>

V řadě zemí se proto přistoupilo k provádění doplňujících testovacích strategií, které mohou bezpečnost spojenou s transfuzními přípravky zvýšit. Jednoznačně nejvyšší výpovědní hodnotu mají testy identifikující přítomnost virové RNA v krevním vzorku dárce (Marwaha and Sachdev, 2014). NAT metody se vyznačují vysokou analytickou senzitivitou vůči HCV RNA a v nastavení ID-NAT mohou detekovat RNA již v koncentraci 2–9,4 IU/ml v rozmezí 4–9 dnů po infekci v závislosti na citlivosti použitého testu.

Některá transfuzní pracoviště místo NAT screeningu virové RNA provádějí testy zjišťující přítomnost jednoho ze strukturálních antigenů HCV, core antigenu. HCV core antigen v séru nebo v plazmě je markerem replikace HCV. Core antigen se v krvi infikované osoby objevuje podstatně dříve, než jsou detekovatelné protilátky (obr. č. 4). Ve srovnání s možností detekce virové RNA je antigen přítomen v krvi infikované osoby jen o 2–8 dnů později. Mohlo by se tedy zdát, že použití testů odhalujících přítomnost core antigenu sérologickými metodami může nahradit nákladnější a časově náročnější NAT metody. Citlivost těchto testů je však výrazně nižší ve srovnání s NAT vzhledem k přítomné virové náloži v časně fázi infekce (viz obr. č. 5).

Pokud můžeme srovnat technologie používané pro průkaz infekce HCV, je zřejmé, že NAT postupy zajišťují jednoznačně nejvyšší senzitivitu testu a současně jsou schopny prokázat i velmi časnou infekci (viz tab. č. 3).

### Porovnání testů pro HCV antigen a NAT

Detekce antigenu může být podle mezinárodních doporučení použita jako náhradní test pro potvrzení diagnózy akutní nebo chronické HCV. Ve srovnání s NAT RNA testy jsou však testy založené na detekci přítomnosti antigenu

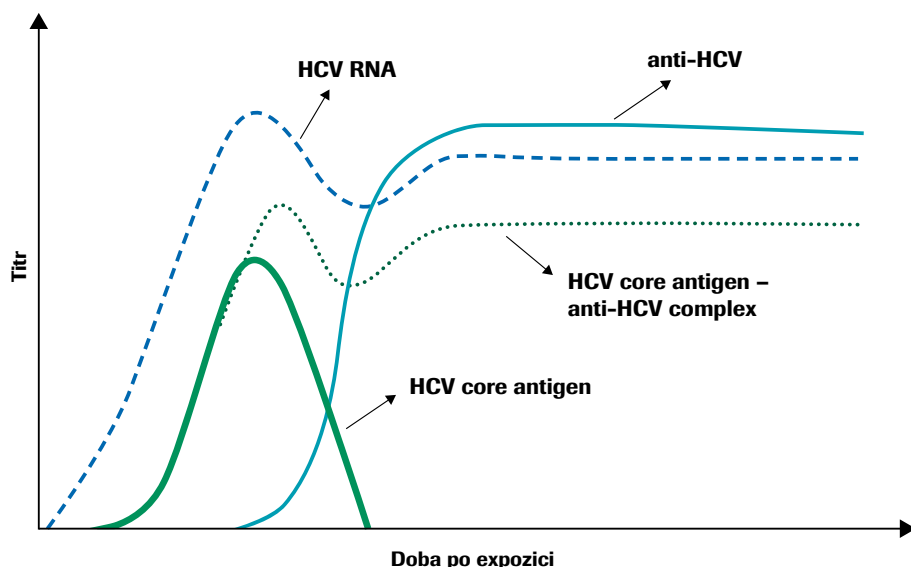


|            | Maximální koncentrace virové NK během viremické fáze diagnostického okna (vDWP)* (IU/ml) |            |                  |                |                   |
|------------|------------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------------|----------------|-------------------|
|            | ID NAT                                                                                   | MP(16) NAT | Antigen EIA/CLIA | Combo EIA/CLIA | Antibody EIA/CLIA |
| HIV        | 150                                                                                      | 2400       | 2 x 104          | 105            | 107               |
| HBV        | 24                                                                                       | 384        | 103              | ---            | ---               |
| <b>HCV</b> | <b>30</b>                                                                                | <b>480</b> | <b>104</b>       | <b>5 x 106</b> | <b>108</b>        |
|            | Délka viremické fáze diagnostického okna pro jednotlivé typy testů (dny) (vDWP)*         |            |                  |                |                   |
|            | ID NAT                                                                                   | MP(16) NAT | Antigen EIA/CLIA | Combo EIA/CLIA | Antibody EIA/CLIA |
| HIV        | 8                                                                                        | 11         | 14               | 16             | 21                |
| HBV        | 27                                                                                       | 37         | 42               | ---            | ---               |
| <b>HCV</b> | <b>5</b>                                                                                 | <b>7</b>   | <b>9</b>         | <b>38</b>      | <b>60</b>         |

▲ Tab. č. 3: Srovnání používaných technologií pro detekci infekce HCV

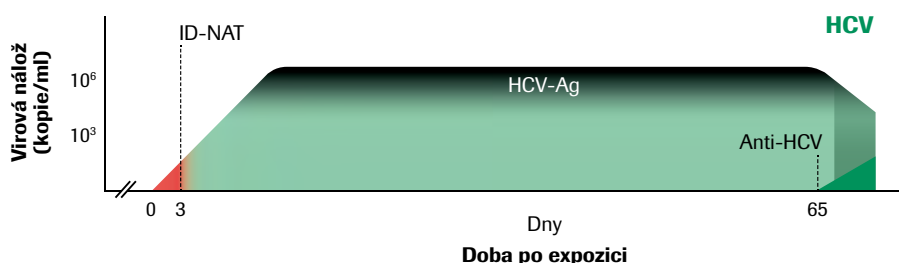
Upraveno dle: WHO GUIDELINE ON ESTIMATION OF RESIDUAL RISK OF HIV, HBV OR HCV INFECTIONS VIA CELLULAR BLOOD COMPONENTS AND PLASMA, 2016.

\* vDWP = viremická fáze diagnostického okna – je definována jako období s virovou koncentrací  $\geq 1$  virová částice v erytrocytární transfuzní jednotce obsahující 20 ml plazmy; 1 virová částice odpovídá 1 (HCV, HBV) nebo 2 (HIV) genomovým virovým kopiím. 1 IU HCV-RNA odpovídá 4 genomovým kopiím HCV-RNA, 1 IU HBV-DNA 5 genomovým kopiím HBV-DNA a 1 IU HIV-1 RNA 0,5 genomové kopie HIV-1 RNA.



▲ Obr. č. 4: Markery infekce HCV – možnosti detekce

Upraveno dle: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386653204002914> (Seme et al., 2005).



▲ Obr. č. 5: Možnost detekce infekce HCV ve vztahu k velikosti virové nálože

Upraveno dle: Kleinman et al., 2009.

méně citlivé (dolní limit detekce antigenu odpovídá zhruba koncentraci RNA HCV 500–3 000 IU/ml, v závislosti na genotypu viru), mohou tedy vést k falešně

negativním výsledkům zejména v případech screeningového testování dárců krve, obzvláště v časně fázi infekce s nízkou virovou náloží.

Diagnostické sety pro identifikaci core antigenu jsou založeny buď na identifikaci samotného antigenu, nebo se jedná o kombinované testy, které současně detekují jak antigen, tak anti-HCV protilátky (tzv. testy čtvrté generace).

Byla provedena celá řada studií, které porovnávaly výkonnost metod detekujících core antigen, ať již samotný, nebo v kombinaci s anti-HCV protilátkami, s metodami NAT (tabulka č. 4).

Z údajů uvedených v tabulce č. 4 je zřejmé, že kombinované testy mají výrazně nižší senzitivitu ve srovnání s testy detekujícími samotný antigen. Např. při použití soupravy Monolisa HCV Ag/Ab ULTRA assay byla potvrzena infekce HCV pouze ve 40,8 % případů HCV-RNA pozitivních vzorků. Pokud byl na stejné skupině vzorků použit test detekující pouze HCV core antigen, senzitivita stoupla na 73,8 %, resp. 96,9 % pozitivních výsledků (Laperche et al., 2005). V další studii tento test dosáhl senzitivity pouhých 29 %, přičemž v některých falešně negativních případech se virová nálož vzorku pohybovala nad hodnotou 106 IU/ml (Tuke et al., 2008). Test Monolisa vykázal také výraznou závislost na testovaném genotypu (genotyp 3 – žádný pozitivně identifikovaný vzorek z celkem 15 NAT-HCV pozitivních). Z těchto výsledků jasně vyplývá,





| Použitý systém                                                                   | Senzitivita testu                 | Citace                  | Poznámka                                                                                |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| Monolisa HCV Ag/Ab ULTRA assay                                                   | 40,8 %                            | Laperche et al., 2005   |                                                                                         |
| HCV core Ag blood screening assay (nespecifikováno)                              | 73,8 %                            |                         |                                                                                         |
| Trak-C assay (Ortho Diagnostics)                                                 | 96,9 %                            |                         |                                                                                         |
| Kombin. test Murex Abbott                                                        | 50 %                              | Tuke et al., 2008       |                                                                                         |
| Komb. test Monolisa Ultra                                                        | 29 %                              |                         |                                                                                         |
| Komb. test Prism Abbott                                                          | 89,8 %                            | Shah et al., 2003       |                                                                                         |
| Hepatitis C cAg (Murine Antibody) ELISA Test Systém (Ortho-Clinical Diagnostics) | 82,6 %                            | Nübling et al., 2002    |                                                                                         |
| Architect HCV Ag assay, Abbott                                                   | 89 %                              | Hullegie et al., 2017   | 39/44 studie HIV pozitivních pacientů; identifikace akutní HCV                          |
| Hepatitis C cAg (Murine Antibody) ELISA Test Systém (Ortho-Clinical Diagnostics) | 83 %                              | Marwaha a Sachdev, 2014 | (96 %, pokud počet kopií RNA > 105; jen 53 % pokud počet RNA kopií nižší)               |
| Trak-C; Ortho-Clinical Diagnostics                                               | 96,7 %                            | Gaudy et al., 2005      |                                                                                         |
| Architect HCV Ag assay, Abbott                                                   | 93,4 % (spec. 98,8 %)             | Freiman et al., 2016    | 23 studií, bez ohledu na reaktivitu anti-HCV                                            |
| Ortho ELISA                                                                      | 93,2 %                            |                         | 6 studií                                                                                |
| Architect HCV Ag assay, Abbott                                                   | 100 %                             | Cresswell et al., 2015  | virová nálož 60 950–14 794 746 IU/ml, pouze 15 osob, HIV-pozitivní s akutní infekcí HCV |
| Architect HCV Ag assay, Abbott                                                   | 97,8 %                            | Kuo et al., 2012        |                                                                                         |
| Architect HCV Ag assay, Abbott                                                   | 94,3 %                            | Yuksel et al., 2011     |                                                                                         |
| Architect HCV Ag assay, Abbott                                                   | 93,8 %                            | Cetiner et al., 2017    | Ag test negativní pod 3 000 IU/ml RNA                                                   |
| Antigen – nespecifikovaný test                                                   | 87 %                              | Peterson J et al., 2000 |                                                                                         |
| Antigen – nespecifikovaný test                                                   | 72,5 %                            | Shaheen et al., 2014    |                                                                                         |
| Metaanalýza – detekce HCV Ag                                                     | poolovaná 84 % (95 % CI: 83–85 %) | Gu et al., 2012         | 25 studií                                                                               |

▲ Tab. č. 4: Senzitivita testů detekujících HCV core Ag

že kombinované testy rozhodně nejsou kvůli své nízké senzitivě spolehlivým řešením pro screening dárců krve a krevních složek.

V přehledné práci Hanse Tillmanna (2014) jsou shrnuty závěry některých studií porovnávajících senzitivitu a specifitu testů detekujících HCV core antigen. Nejvíce pozornosti věnuje studiím pracujícím se soupravou, která je v současné době pro testování HCV core antigenu nejčastěji používána (Architect HCV Ag assay, Abbott). Kromě jiného cituje práci Rosse (2010), v níž jsou uvedeny výsledky ověření analytické senzitivity tohoto testu (viz tabulka č. 5).

V další souhrnné studii Khan et al. (2017) srovnával celkem 24 prací, které hodnotily analytickou a klinickou výkonnost testů pro detekci core antigenu HCV (viz tabulka č. 6). Z velkého rozptylu hodnot

| Genotyp HCV | Výrobce  |           | Ross et al. (2010) |             |
|-------------|----------|-----------|--------------------|-------------|
| Subtyp 1a   | 3 fmol/l | 507 IU/ml | 5,3 fmol/l         | 896 IU/ml   |
| Subtyp 1b   | 3 fmol/l | 405 IU/ml | 3,5 fmol/l         | 428 IU/ml   |
| Genotyp 2   | 3 fmol/l | 600 IU/ml | 13,5 fmol/l        | 2 700 IU/ml |
| Genotyp 3a  | 3 fmol/l | 771 IU/ml | 3,9 fmol/L         | 1 002 IU/ml |

▲ Tab. č. 5: Analytická výkonnost Architect HVC Ag assay Abbott (Ross et al., 2010)

|                                   | Všechny práce bez ohledu na testované systémy           | Práce týkající se soupravy core Ag HCV (Abbott)         |
|-----------------------------------|---------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Počet studií a testovaných vzorků | 24<br>8 136 vzorků                                      | 8<br>4 427 vzorků                                       |
| Falešně negativní výsledky        | 0–18,5 %<br>(průměr 3,52 %)                             | 0–18,5 %<br>(průměr 2,11 %)                             |
| Falešně pozitivní výsledky        | 0–2,86 %<br>(průměr 0,57 %)                             | 0–1,1 %<br>(průměr 0,6 %)                               |
| Specifita testu                   | 40–100 %<br>průměr 96,63 %<br>(95 % CI, 96,42–96,85)    | 95,08–100 %<br>průměr 99,03 %<br>(95 % CI, 98,73–99,32) |
| Senzitivita testu                 | 14,29–100 %<br>průměr 93,94 %<br>(95 % CI, 93,73–94,15) | 75,83–100 %<br>průměr 96,72 %<br>(95 % CI, 96,42–97,01) |

▲ Tab. č. 6: Výsledky studií srovnávajících analytickou výkonnost testů vzhledem k detekci core Ag HCV

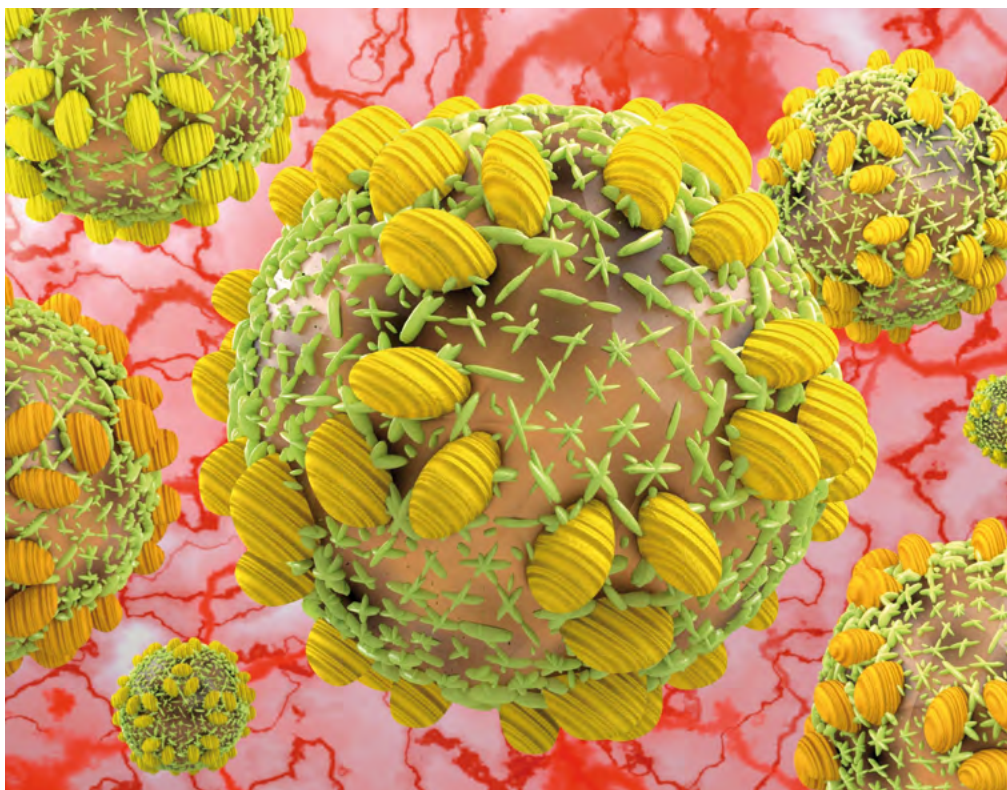


senzitivity testů vyplývá, že pro screening dárců krve a konfirmaci reaktivních výsledků není tato strategie optimální.

Nížší senzitivita testu je kromě virové nálože v ověřovaných vzorcích také velmi ovlivněna variabilitou virového genomu (viz tabulka č. 7, Ottiger et al., 2013).

Je nutné si vždy uvědomit, že při interpretaci výsledků testů citovaných v různých publikacích a studiích je nutné postupovat s ohledem na používaný testovací systém pro virovou RNA a jeho hodnotu LLoD. V případě, že je použitý test s vysokou hodnotou LLoD, hodnota specifity a senzitivity testu core Ag HCV může být vyšší ve srovnání s pracemi, které srovnávaly výkonnost se soupravou pro detekci RNA s nižší LLoD. Senzitivita testu pro detekci antigenu je také ovlivněna množstvím přítomných HCV protilátek ve vzorku, které mohou interferovat s detekcí antigenu a mohou tak snížit senzitivitu testu pro detekci antigenu (např. Reddy et al., 2006, senzitivita pouze 14 %).

Při implementaci testů detekujících přítomnost virové RNA je důležité brát v úvahu fakt, že koncentrace virových partikulí klesá a významně kolísá u infikovaných osob po sérokonverzi nebo během remise a při chemoterapii. Může tedy dojít k tomu, že při použití minipool strategie (MP16 a více) může být vzorek NAT negativní, ale v sérologických testech prokazujících přítomnost protilátek pozitivní (Roth et al., 2012). Z toho je zřejmé, že sérologické a NAT testy jsou navzájem komplementární a nelze je navzájem nahradit.



| Genotyp HCV        | Analytická senzitivita    |
|--------------------|---------------------------|
| Genotyp 1a         | 963–3 507 IU/ml HCV RNA   |
| Genotyp 1b         | 1 527–6 382 IU/ml HCV RNA |
| Genotyp 2 (a/c, b) | 568–35 318 IU/ml HCV RNA  |
| Genotyp 3a         | 1 088–4 920 IU/ml HCV RNA |
| Genotyp 4 (a/c/d)  | 251–2 870 IU/ml HCV RNA   |
| Pool genotypů      | 3 700 IU/ml HCV RNA       |

▲ Tab. č. 7: Detekční limity pro detekci core antigenu produkovaného virem jednotlivých genotypů HCV (platform Architect i2000SR®, Abbott), (Ottiger et al., 2013)

Z uvedených dat je patrné, že přestože testy detekující core HCV antigen přinášejí výrazné zkrácení diagnostického okna oproti testům anti-HCV, nezajišťují dostatečnou senzitivitu z hlediska požadavků kladených na vyšetřování dárců krve. Pro zařízení transfuzní služby je

testování antigenu sice možnou alternativou, nicméně jde o alternativu méně spolehlivou, a proto je namístě preferovat metody s vyšší citlivostí, tedy NAT technologie, které jsou díky své senzitivě dalším významným pokrokem v zajištění bezpečnosti krevních přípravků.



### Mgr. Petra Trachtulcová, Ph.D.

ROCHE s.r.o., Diagnostics Division  
Kontakt: petra.trachtulcova@roche.com

Od roku 2018 pracuje ve společnosti Roche Diagnostics s.r.o. jako aplikační specialista pro koagulační analyzátory a věnuje se spolupráci s laboratořemi v zařízeních transfuzní služby. Přivítala by den alespoň o pár hodin delší, aby kromě práce stihla jógu, kreslení, filmy, dobrou muziku a knížky a spoustu dalších věcí, které dodávají životu tu správnou chuť.



## LITERATURA

1. Syria Laperche, Nadine Le Marrec, Annie Girault, Francoise Bouchardeau, Annabelle Servant-Delmas, Michèle Maniez-Montreuil, Pierre Gallian, Thierry Levayer, Pascal Morel, and Nicole Simon. Simultaneous Detection of Hepatitis C Virus (HCV) Core Antigen and Anti-HCV Antibodies Improves the Early Detection of HCV Infection; *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, Aug. 2005, p. 3877-3883, Vol. 43, No. 8.
2. J. Morgan Freiman, MD, Trang M. Tran, Samuel G Schumacher, MSc, PhD, Laura F. White, PhD, Stefano Ongarello, PhD, Jennifer Cohn, MD, MPH, Philippa J. Easterbrook, MD, MPH, Benjamin P. Linas, MD, MPH, and Claudia M. Denninger, MD, PhD. HCV Core Antigen Testing for Diagnosis of HCV Infection: A systematic review and meta-analysis; *Ann Intern Med.* 2016 September 06; 165(5): 345-355. doi:10.7326/M16-0065.
3. Cresswell, Martin Fisher, Daniel J. Hughes, Simon G. Shaw, Gary Homer, and Mohammed O. Hassan-Ibrahim. Hepatitis C Core Antigen Testing: A Reliable, Quick, and Potentially Cost-effective Alternative to Hepatitis C Polymerase Chain Reaction in Diagnosing Acute Hepatitis C Virus Infection; *Clinical Infectious Diseases*\* 2015; 60(2): 263-6.
4. Shah O. Dinesh, Chi D. Chang, Lily X. Jiang, Kevin Y. Cheng, A. Scott Muerhoff, Robin A. Gutierrez, Thomas P. Leary, Suresh M. Desai, Irene V. Batac-Herman, Vince A. Salbilla, Alla S. Haller, James L. Stewart, and George J. Dawson. Combination HCV core antigen and antibody assay on a fully automated chemiluminescence analyzer *Transfusion* 2003, 43 (8): 1067-74
5. Tuke PW, Grant PR, Waite J, Kitchen AD, Eglin RP, Tedder RS (2008). Hepatitis C virus window-phase infections: closing the window on hepatitis C virus. *Transfusion* 48: 594-600. Volume 43, August 2003 *TRANSFUSION* 1067, From the New Assay Development and Infectious Diseases; R & D, Abbott Diagnostics Division, Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois.
6. Roth WK, et al. International survey on NAT testing of blood donations: expanding implementation and yield from 1999 to 2009. *Vox Sang* 2012; 102: 82-90 [PMID: 21933190 DOI: 10.1111/j.1423-0410.2011.01506.x
7. Ross RS, Viazov S, Salloum S, Hilgard P, Gerken G, Roggendorf M. Analytical performance characteristics and clinical utility of a novel assay for total hepatitis C virus core antigen quantification. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 1161-1168 [PMID: 20107102 DOI: 10.1128/JCM.01640-09].
8. Hans L Tillmann Hepatitis C virus core antigen testing: Role in diagnosis, disease monitoring and treatment; *World J Gastroenterol* 2014 June 14; 20(22): 6701-6706 ISSN 1007-9327 (print) ISSN 2219-2840 (online) *World J Gastroenterol* 2014 March 21; 20(11): 2948-2954 ISSN 1007-9327.
9. Neelam Marwaha, Suchet Sachdev. Current testing strategies for hepatitis C virus infection in blood donors and the way forward; *WJG 20th Anniversary Special Issues (2): Hepatitis C virus.*
10. Micha C. Nübling, Gabriele Unger, Michael Chudy, Steven Raia, Johannes Löwer Sensitivity of HCV core antigen and HCV RNA detection in the early infection phase; *Transfusion* vol. 42; August 2002, 1037-45.
11. Sebastiaan J. Hulleger, Corine H. Geurtsvan-Kessel, Annemiek A. van der Eijk, Chris Ramakers and Bart J. A. Rijnders. HCV antigen instead of RNA testing to diagnose acute HCV in patients treated in the Dutch Acute HCV in HIV Study; *Journal of the International AIDS Society* 2017, 20:21621. <http://www.jiasociety.org/index.php/jias/article/view/21621> | <http://dx.doi.org/10.7448/IAS.20.1.21621>
12. Cornelia Ottiger\*, Nicole Gygli, Andreas R. Huber. Detection limit of architect hepatitis C core antigen assay in correlation with HCV RNA, and renewed confirmation algorithm for reactive anti-HCV samples; *Journal of Clinical Virology* 58 (2013) 535-540.
13. Harun Khan, Andrew Hill, Janice Main, Ashley Brown, and Graham Cooke. Can Hepatitis C Virus Antigen Testing Replace Ribonucleic Acid Polymerase Chain Reaction Analysis for Detecting Hepatitis C Virus? A Systematic Review; *Open Forum Infectious Diseases*\* © The Author 2017. DOI: 10.1093/ofid/ofw252.
14. AK Reddy, KV Dakshinamurthy, V Lakshmi. Utility of HCV core antigen elisa in the screening for hepatitis C virus infection in patients on hemodialysis *Indian J Med Microbiol.* 2006 Jan;24(1):c 55-7.
15. Peterson J, Green G, Iida K, et al. Detection of hepatitis C core antigen in the antibody negative "window" phase of hepatitis C infection. *Vox Sang* 2000; 78: 80-5.
16. Shaheen A.M, Amin A.M, Tawfik A.K, Ezz Elden M.M. Analytical evaluation of Hepatitis C Virus Core Antigen Detection as a Diagnostic Test in Diagnosis of HCV Infection; *Egyptian Journal of Medical Microbiology*, October 2014 Vol. 23, No. 41.
17. Katja Semea, Mario Poljaka, Dunja Z. Babic, Tina Mocilnik, Adriana Vince. The role of core antigen detection in management of hepatitis C: a critical review. *Journal of Clinical Virology* 32 (2005), 92-101.
18. Steven H. Kleinman, Nico Lelie, and Michael P. Busch. REVIEW – Infectivity of human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus and risk of transmission by transfusion. *TRANSFUSION* Volume 49, November 2009, 2454-2489.
19. 2017 European Guideline for the screening, prevention and initial management of hepatitis B & C infections in sexual health settings (2017 IUSTI Europe Hepatitis Guideline), <https://www.iusti.org/regions/europe/pdf/2017/IUSTIEuropeHepatitis2017.pdf>
20. Yuksel P, Caliskan R, Ergin S, Aslan M, Celik DG, Saribas S, Ziver T, Yalciner A, Kocazeybek B. New approaches to in vitro diagnosis of hepatitis C infection a reason for post transfusion hepatitis: Diagnostic value of determination of hepatitis C virus core antigen. *Transfus Apher Sci.* 2011 Dec;45(3): 247-50. doi: 10.1016/j.transci.2011.10.002. Epub 2011 Nov 2.
21. Salih Cetiner, Alev Cetin Duran, Filiz Kibar, Akgün Yaman Performance comparison of new generation HCV core antigen test versus HCV RNA test in management of hepatitis C virus infection. *Transfusion and Apheresis Science* 56 (2017) 362-366.
22. Kuo Yuan-Hung, Kuo-Chin Chang, Jing-Houng Wang, Pei-Shan Tsai, Shu-Feng Hung, Chao-Hung Hung, Chien-Hung Chen, and Sheng-Nan Lu. Is Hepatitis C Virus Core Antigen an Adequate Marker for Community Screening? *Journal of Clinical Microbiology* June 2012 Volume 50 Number 6, p. 1989-1993.
23. Turek P., Masopust. J. Činnost transfúzní služby v České republice v období 1989–2013. *Transfúze Hematol. dnes*, 20, 2014, No. 4, p. 125-135.
24. APASL consensus statements and recommendation on treatment of hepatitis C - *Hepatol Int.* DOI 10.1007/s12072-016-9717-6.
25. AASLD: Testing, Evaluation, and Monitoring of Hepatitis C. From [www.HCVGuidance.org](http://www.HCVGuidance.org) on November 27, 2018.
26. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol* (2018), <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.03.026>
27. [https://talk.ictvonline.org/ictv\\_wikis/flaviviridae/w/sg\\_flavi/56/hcv-classification](https://talk.ictvonline.org/ictv_wikis/flaviviridae/w/sg_flavi/56/hcv-classification)





První dekáda nového tisíciletí znamenala bouřlivý rozvoj molekulárně biologických technik a jejich diagnostických aplikací, zároveň však byla i obdobím určité stabilizace v dané oblasti. Amplifikační techniky jsou ovlivněny nástupem PCR v reálném čase, pro niž konečně bylo vyvinuto příslušné instrumentarium. Tím však byl odsunut na vedlejší kolej dosavadní vrchol automatizace end-point PCR – analyzátor COBAS® Amplicor™, neboť jeho hlavní přednosti – kvantifikační testy a multiplicitní detekci přivedla technologie real-time PCR na kvalitativně vyšší úroveň. Přesto, z dlouhodobého pohledu, byl COBAS® Amplicor™ jedním z obchodně nejúspěšnějších analyzátorů vyráběných v rámci koncernu F. Hoffmann – La Roche v továrně Tegimenta AG v Rotkreuzu u Lucernu. Vyrobito se více než 15 000 kusů vyznačujících se minimální poruchovostí, z nichž část doposud slouží v laboratořích po celém světě. Technická podpora skončí teprve v roce 2020. I v naší laboratoři ve VFN jeden najdeme. Dnes slouží výlučně k diagnostice mykobakterií, pro což se výborně hodí, stejně jako do laboratoří provádějících genotypizaci hepatických virů.

## Polymerázová řetězová reakce v průběhu třiceti let od první publikace – 8. část

**MUDr. EMIL PAVLÍK, CSc.**

*Ústav imunologie a mikrobiologie 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN v Praze, Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva FBMI ČVUT Kladno*

Zákazníci Roche si postupně zvykají na převratnou novinku – LightCycler® a značené sondy TaqMan™. Tenkostěnné plastové amplifikační zkumavky o objemu 200 µl byly nahrazeny kapilárami z borosilikátového skla o objemu 20 µl.

Místo 50 µl vzorku stačí 5 µl. Odečítáme současně signál 4 vlnových délek: 530, 560, 630 a 705 nm (u čtyřkanalových verzí 1.0 a 1.5). Ale především se dramaticky zkrátil čas potřebný pro změnu teploty v jednotlivých cyklech, čímž se urychlil celý proces amplifikace, k němuž bylo možno přidat 5 až 10 cyklů. To zase vedlo k dalšímu zvýšení citlivosti této diagnostické techniky. Konkurence rovněž nespí. Australská firma Corbett představuje svůj karuselový RotorGene s rotorem osazeným 36 tenkostěnnými mikrozku-mavkami. Dynatech, který se stal součástí holdingu Thermo, představuje v ČR komorový SmartCycler se zvláštními



▲ Obr. č. 1: Molekulárně biologická laboratoř Cytolab, spol. s r.o. Malá, ale účelně zařízená...





plochými kazetami pro průběh reakce. Ten se v USA hojně uplatnil za panické situace se zneužitím spor antraxu k bioterroristickým účelům, kdy jím byly vybaveny úřadovny federální US Mail Service, aby jejich výškolení pracovníci mohli testovat bílý prášek trousící se z některých zásilek. IndyCycler se ve střední Evropě neobjevil, vědeckým institucím byl však nabízen Applied Biosystems ABI3000 (Perkin-Elmer).

V roce 2003 jsem přišel jako odborný zástupce pro mikrobiologii do soukromé laboratoře Cytolab, spol. s r.o., majitelů MUDr. Pocha a RNDr. Paulíka s úkolem rozvinout segment molekulárně biologických diagnostických technik. V laboratoři byly v době mého příchodu 2 cykléry Biometra, COBAS® Amplicor™, Biohazard Box tř. 2, horizontální elektroforéza BioRad a zařízení pro manuální Elis. Laboratoř byla velmi dobře vybavena pro sérologickou a imunologickou diagnostiku, měla šikovný a kvalifikovaný personál a výbornou ekonomickou stabilitu, umožňující potřebné investice.

Problémem byl limitovaný prostor. Potřebovali jsme další místnost. Správa budovy ji v návaznosti na stávající umístění laboratoře neměla k dispozici. V mapě pronájmu však byl skládek, místnost bez oken o podlahové ploše cca 12 m<sup>2</sup>. Během jediného víkendu byl vyklizen, v průběhu týdne truhlářská firma zhotovila stoly po celém obvodu místnosti, koncem týdne jsme se rozhodli, kam přijdou police, a přípravy byly hotovy. Pro automatizaci přípravy vzorku jsme zvolili automat MagNAPure Compact, umožňující zpracování jak DNA, tak RNA s pomocí unikátních reagenčních kazet. I přes varování, že kapacita přístroje je pouze 8 vzorků za 29 minut. Tato zdánlivá nevýhoda byla eliminována postupem v rámci laboratoře, kdy přichází vzorky byly ihned zpracovány a teprve zpracované zmrazovány ke skladování. Tím byla maximálně využita kapacita přístroje. Na druhé straně nutno přiznat,



▲ Obr. č. 2: Pracoviště LightCycler 2.0 v laboratoři Cytolab, spol. s r.o.

že toto vytížení se projevilo v životnosti: po třech letech provozu byla poruchovost taková, že si vyžádala výměnu prakticky všech hlavních komponent stroje.

Další akvizicí byl první šestikanálový LightCycler® verze 2.0 dodaný do České republiky. Pocházel ještě z prototypové série, všechny kanály byly plně otevřené i pro vědecké účely. Tím začal náš podíl na projektech PCR Tailoring, o nichž bude řeč dále. Pro rutinní PCR jsme pořídili COBAS® TaqMan® 48 a Corbett Rotorgene 5000. S laminární skříní třídy bezpečnosti 1 jsme na 12 čtverečních metrech měli vše potřebné. Vzhledem k tomu, že laboratoř byla ekonomicky úspěšná, neměli jsme problém s jejím dovybavováním. Jediným investičním problémem byl hlubokomrazicí box (-80° C), avšak i ten jsme nakonec získali, byť již pod jiným vlastníkem. Ale o tom později.

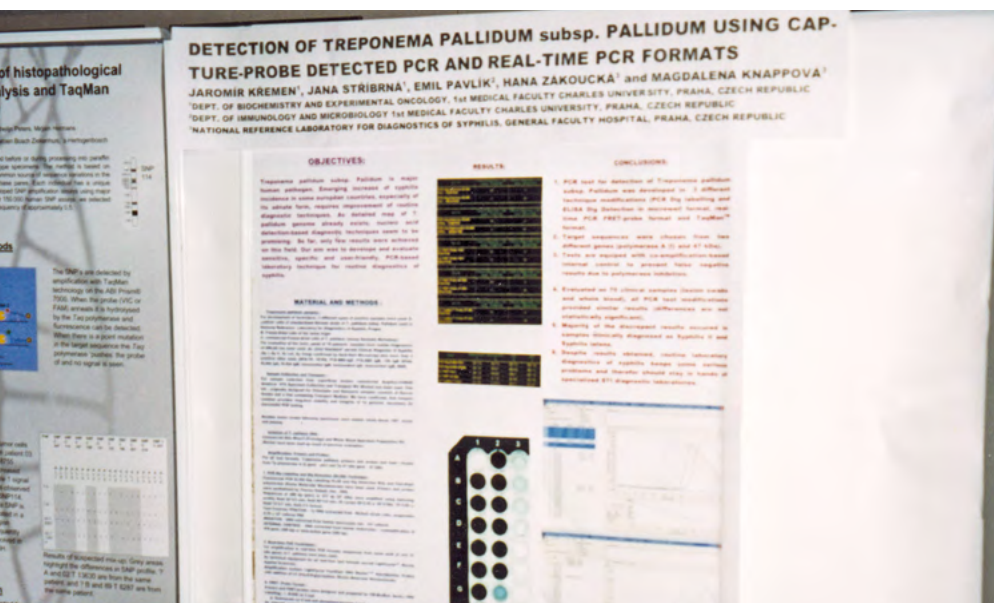
### Projekt PCR Tailoring

Projekt PCR Tailoring vznikl v posledních letech minulého tisíciletí jako služba zákazníkům, kteří si stěžovali na úzké spektrum dodavatelského portfolia PCR testů. Na mikrodestičkové platformě Boehringer Mannheim AG PCR Dig-Labeling Kit

a Dig-Detection Kit se streptavidinovou záchytnou sondou bylo možné detekovat PCR produkty s biotinylovaným 3' koncem. Amplifikace probíhala s užitím značených nukleotidů. Zákazník si doplnil primery a sondy dle vlastního návrhu. Ty bylo třeba syntetizovat. V této oblasti nabízely služby různé biotechnologické společnosti z řady zemí světa, v různé kvalitě a v různých cenách. Bohužel, ne vždy vysoká cena odrážela odpovídající kvalitu. Zde Roche Diagnostics zvolil pro spolupráci firmu TIB MolBiol Berlin. Když pak uvedla firma na trh soupravy RealTime PCR HybProbe Labelling and Detection Kit a RealTime PCR TaqMan Labelling and Detection Kit, byl zde k dispozici osvědčený partner pro zakázkovou syntézu oligonukleotidů ve vysoké kvalitě, s vhodným poměrem nukleotidů a zárukou respektování duševního vlastnictví autorů.

### Projekt Disease Management

K diagnostice virových hepatitid měla společnost Roche velmi rozsáhlé portfolio testů. A především – sesterská divize Roche Pharma produkovala Roferon A a později Pegasys. A tak se zrodil nápad, proč vzájemně nepodpořit



▲ Obr. č. 3: Prezentace výsledků práce na vývoji testu pro PCR detekci *Treponema pallidum* s využitím primerů a sond připravených MB MolBioL, Berlín

marketing. V oblasti marketingu jde většinou o tvrdý business. Zde je však třeba říci, že profitujícím z tohoto projektu je jednoznačně pacient, jemuž se dostane všeho, co mu náleží. Jak takový projekt vypadá v praxi, si ukážeme na příkladu České republiky a hepatitidy C. Podmínkou zdravotních pojišťoven pro úhradu interferonové terapie hepatitidy C byl pozitivní výsledek kvalitativního PCR testu. Dle doporučení hepatologické společnosti následoval tento postup: V den zahájení terapie byl před aplikací interferonu odebrán vzorek krve pro úvodní kvantitativní PCR vyšetření. Z něj byla zjištěna počáteční hodnota virové nálože, která měla i určitý prognostický význam. Po 3 až 4 týdnech se provedl odběr dalšího vzorku, jehož vyšetření bylo rozhodující pro další průběh léčby. Pokud došlo k poklesu hodnoty alespoň o řád, pacient na léčbu odpovídal a nebylo třeba ji upravovat. Pokud byly obě hodnoty v rozmezí stejného řádu, pacient na léčbu omezeně reagoval, situaci však bylo třeba řešit úpravou dávek. Pokud došlo k vzestupu minimálně o jeden řád, pacient na léčbu nereagoval, léčbu bylo nutno změnit. V případě změny léčby nebo dávkování se kontrolní odběr prováděl opět za 3 až 4 týdny, v ostatních případech pak každé

3 měsíce až do vymizení virémie, po dalších 3 měsících bylo třeba provést alespoň kvalitativní PCR k vyloučení relapsu po ukončení terapie. Jelikož léčba hepatitidy C trvala obvykle rok, náklady na vyšetření nebyly bezvýznamné a některé laboratoře měly problémy s nasmlouváním vyšetření u pojišťoven.

Projekt Disease Management spočíval v nabídce, že pacientům léčeným Rofeironem nebo Pegasysem uhradí dodavatel léku náklady na laboratorní monitoring léčby. Projekt měl globální platnost, v České republice se k akci připojila i konkurenční společnost Shering-Plough, která nakoupila vyšetřovací soupravy COBAS® AmpliCor™ HCV Monitor pro pacienty léčené preparáty Intron a Pegintron.

### Moje účast na projektu v Turkmenistánu

Turkmenistán je postsovětská republika ležící v Asii. Její území zahrnující 488 000 km<sup>2</sup> začíná na březích Kaspického moře a podél hranice s Íránem se táhne k podhůří Hindúkuše, kde hraničí s Afghánistánem. Severními sousedy jsou Uzbekistán, s nímž část hranice tvoří řeka

Amudarja, a v oblasti Kaspiku pak Kazachstán. 80 % převážně nížinatého území zaujímá písečná poušť Karakum. Hlavní město Ašchabad leží v horách 30 km od íránské hranice. Jeho mezinárodní letiště je využíváno při cestách do Afghánistánu k natankování pohonných hmot jak civilními, tak vojenskými letadly. Turkmenistán vystoupil ze svazku SSSR jako poslední svazová republika, a přestože zůstal formálně členem Společenství nezávislých států, je jedinou postsovětskou republikou s vízovou povinností při cestách do Ruské federace. Země rovněž čelila tvrdým energetickým sankcím iniciovaným Ruskem. Přestože má Turkmenistán velké zásoby ropy i zemního plynu, tyto suroviny zde – s ohledem na polohu země ve složitých geologických podmínkách – nebyly těženy a země byla zásobována podmořským ropovodem a plynovodem z ázerského Baku. Uprostřed zimy 1992/1993 došlo k náhlému uzavření kohoutů. A země mrzla. V čele země stál bývalý první tajemník KST Saparmurat Atajevič Nijazov

### Ázerský nebo Ázerbajdžánský?

Většinový národ (91 %), který obývá stát Ázerbajdžán, jsou Ázerové, nejbližší příbuzní Turků. Jejich jazyk – ázerština – se liší od turečtiny asi jako čeština od slovenštiny. Ázerbajdžán = země Ázerů.

(1940–2006), který – údajně v rámci boje proti islámskému radikalismu – rozvinul kult osobnosti v míře nevidané. Prohlásil se za otce všech Turkmenů (Turkmenbaši), napsal knihu, jež se stala povinným výukovým textem ve všech školách i podnikách v zemi. V centru Ašchabadu nechal postavit Archu nezávislosti – jejíž součástí je šedesátimetrový sloup, na němž stojí jeho zlatá socha v nadživotní velikosti, která se během dne otáčí za sluncem... Na druhou stranu, za jeho vlády byl vybudován těžební, chemický a textilní průmysl i dopravní infrastruktura, přičemž zahraniční majetková účast v turkmenských podnicích nesměla přesáhnout 49 %.





Převážná část zahraničních investic v zemi pochází z Německa.

V rámci zdravotnické politiky jsou služby poskytovány turkmenským občanům bezplatně, platí se pouze regulační poplatky. Pro poskytování služeb bylo rozhodnuto postavit v pěti provinciích shodná zdravotnická centra odpovídající západoevropskému standardu. První z nich bylo postaveno v Ašchabadu německými firmami tzv. na klíč. Generálním dodavatelem byla společnost Siemens AG. Zařízení laboratoří, které zákazník požadoval a které nepatřilo do portfolia vlastních výrobků, Siemens jednoduše koupil u výrobce a postavil na místo v laboratoři. A víc nic. Turkmeni je pochopitelně ovládat neuměli a výrobce je přece prodal Siemensu. Nechtě se kolegové dostaví, my je rádi zaškolíme. Že je třeba školení v Ašchabadu? Tak nám uhradte náklady. To se generálnímu dodavateli nelíbilo a navíc by vznikl precedens. A tak vybavení s pořizovací cenou v desetitisících eur stálo na stolních deskách jako pomník bez naděje na řešení. V zoufalých situacích se občas objeví racionální řešení, a to tehdy, když se najde někdo, komu kvetoucí blbost vadí. Tím někým byla Karina Jurjevna Ajrieva, vedoucí zastoupení Roche v Turkmenistánu, čímž bylo rozhodnuto

o spuštění programu HCV Disease Management v Ašchabadu.

První zamýšlený termín mého příjezdu do Ašchabadu v lednu 2007 nevyšel, protože 21. prosince Saparmurat Atajevič Nijazov náhle zemřel na srdeční zástavu a národ pro svého diktátora truchlil. Po skončení státního smutku proběhly nové prezidentské volby, v nichž byl zvolen prezidentem bývalý rektor Státního stomatologického institutu a ministr zdravotnictví ve vládách Turkmenbašihovy éry Gurbanguli Berdymuhamedov. Mezitím mi propadlo vstupní vízum a bylo nutno o něj žádat znovu.

Do Ašchabadu jsem letěl v druhé polovině dubna s tureckými aeroliniemi přes Istanbul, neboť další možná varianta s Lufthansou přes Frankfurt a Baku byla mnohem dražší a navíc i časově delší. Po večerním přistání na letišti v Ašchabadu mne příjemně překvapila nejen moderní budova terminálu, ale i absence dosluhující sovětské letecké techniky. Všechna zaparkovaná letadla turkmenské letecké společnosti byly Boeingy 737 nejnovější modelové řady, která obsluhují mezinárodní linky do Moskvy, Taškentu, Abú Zabí, Almat, Minsku, Amritsaru, Dillí, Petrohradu a Istanbulu a přes 20 vnitrostátních letišť



▲ Obr. č. 5: Před budovou turkmenského Ministerstva zdravotnictví, přezdívanou Kobra

v provinciích. Plánoval se i nákup letadel dálkové flotily. Městská hromadná doprava v Ašchabadu spočívala na obstarožních československých trolejbusech Škoda 9Tr, udržovaných v provozuschopném stavu všemi možnými (i zdánlivě nemožnými) prostředky. V době mé návštěvy tento typ přesluhoval svou plánovanou životnost nejméně o 15 let. Trolejbusy doplňovaly autobusy íránské provenience. Ani automobilní vozový park nebyl nijak bohatý. Kromě silou vůle udržovaných Volh, Lad, Ižů a Záporožců byly vidět pouze Peugeoty 206 a v Dubaji vyráběná SUV Honda. Jsem přesvědčen, že naše obchodní zastoupení v této zemi by bylo přijato s povděkem. Náš velvyslanec sídlící v té době v Moskvě ovšem těžko mohl projevat nějakou iniciativu, a to nejen v obchodní oblasti.

Druhý den svého pobytu jsem se seznámil s Medicínským centrem v Ašchabadu. Jedná se o 6 samostatných pavilonů, v nichž jsou umístěny kliniky a další pracoviště medicínských oborů. I ze stavebního hlediska je jejich provedení perfektní, což v těchto geografických oblastech nebývá pravidlem. Zařízení a přístrojové vybavení je rovněž špičkové. To jsem ovšem ještě netušil, za jakých okolností budu



▲ Obr. č. 4: Jeden z 6 pavilonů Medicínského centra v Ašchabadu



mít příležitost otestovat odbornou úroveň zdravotnického personálu. Celý můj týdenní pobyt měl nabitý program. V laboratoři jsme uvedli do provozu systém COBAS® AmpliPrep™ a COBAS® TaqMan® a zavedli monitorovací testy na hepatitidy a HIV, na COBASu Amplicor jsme zavedli kvalitativní testy na STI a mykobakterie, nacvičili jsme základní obsluhu Light-Cycleru. Musím říci, že všech 7 účastníků školení bylo vysoce kvalifikovaných a manuálně zručných, zvyklých pracovat dle zásad správné laboratorní praxe.

Můj program v Ašchabadu nezahrnoval jen školení. Jako první delegovaný pracovník zahraniční společnosti jsem byl přijat náměstkem ministra zdravotnictví. Byl jsem požádán o přednášku v rámci postgraduálního vzdělávání lékařů, navštívil jsem příslušné Národní referenční laboratoře a provoz Transfuzní služby. Volného času bylo minimum a byl věnován v naprosté většině kulinářským zážitkům turkmenské kuchyně. Několikrát jsem si v hotelu pustil televizi. Pokaždé byl přímý přenos ze zasedání parlamentu. Diskuse byla autoritativně řízena, poslanci byli vyvoláváni předsedajícím, stávali se do pozornosti a věcně odpovídali. Přítomnost všech v celém průběhu jednání byla naprostou samozřejmostí, odcházet, bavít se nebo snad spát si nedovolil nikdo. Cílenou kritiku přijímali kritizovaní „se sklopenými ušima“, předsedajícímu se neoponovalo.

### Přednáška a noc na JIP

Když přišla Karina s nabídkou, že slajdy z mé prezentace přepracují na ruskou

verzi včetně všech popisů, mohl jsem to tušit. Rovněž jsem měl tušit, že kulinářské zážitky z turkmenské kuchyně nezůstanou nepotrestány. Blížil se konec mého týdenního pobytu. Po ranním časném probuzení jsem mohl pouze konstatovat výbuch ve střevě. Vynechání snídaně, resp. její náhrada aktivním uhlím, se mi zdálo jako jediná možná varianta. Dopolední program jsem jakž takž zvládl, nicméně potíže neustupovaly. Na 14.30 jsem

Přednáška začala s 15minutovým zpožděním, protože režisér trval na tom, že přenos začne rozhovorem reportérky se mnou. Po devadesáti minutách prezentace následovala hodinová diskuse. Pak přišel rozhovor pro rozhlas a debata s pišícími novináři. Po třech a půl hodinách jsem se konečně vypotácel ze sálu. Když mi hostitelé navrhli návštěvu lékaře za účelem předpisu opiové tinktury, souhlasil jsem.



▲ Obr. č. 6: Automat pro izolaci nukleových kyselin z biologických vzorků pracující s uzavřeným kazetovým systémem MagNA Pure Compact

měl plánovanou přednášku, a jediné, co mě zajímalo, bylo jak přežít 2 hodiny bez nutnosti odbíhat. Zrušil jsem tedy oběd a připravoval jsem se na hotelovém pokoji. Ve 14.15 jsem vstoupil do kongresového sálu, v němž bylo obsazeno všech 260 míst lékaři z celé země. Navíc zde byly kamery Turkmenké státní televize. Pochopil jsem, že v programu přímých přenosů turkmenské TV střídám parlament.

Na ambulanci sloužil mladý intenzivista. Byl jsem ještě ve dveřích, když určil diagnózu: „Ten? Ten nepotřebuje opiovou tinkturu, ten potřebuje zavodnit. Je strašně dehydrovaný.“ Pak se obrátil ke mně: „Necháme si Vás tu do rána.“ A tak jsem skončil na lůžku jednotky intenzivní péče Medicínského centra v Ašchabadu. Ráno jsem byl propuštěn, zcela fit, takže zbytek mého pobytu proběhl již bez problémů.



#### MUDr. Emil Pavlík, CSc.

Akademický pracovník, Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Studničkova 7, Praha 2. Odborný asistent katedry zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva Fakulty biomedicínského inženýrství ČVUT v Praze se sídlem Sportovců 2311, Kladno. Vedoucí lékař Sérologické laboratoře Ústavu léc. biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN Praha.

Kontakt: epavl@lf1.cuni.cz, pavliemi@fbmi.cvut.cz

Absolvent FVL UK v Praze 1980, obor Všeobecné lékařství, atestace z lékařské mikrobiologie II. stupně 1998, licence ČLK pro vedoucího lékaře-primáře 2000, CSc., v oboru Genetika 2001, školitel PGS v doktorském studijním programu FBMI.



Chystáme pro vás softwarovou novinku z rodiny řídicích softwarů typu middleware. Mnozí z vás již pracovali se systémem PSM a následně s výkonnějším systémem cobas IT middleware, který používaly laboratoře především v západní Evropě. Avšak technologický vývoj na poli laboratorní techniky se nedá zastavit, a tak vám představujeme novinku cobas® infinity central lab.

## cobas® infinity central lab

Mgr. ONDŘEJ ŠIMEK

ROCHE s.r.o., Diagnostics Division

Určitě vás napadne, proč přicházíme s novým **cobas® infinity central lab** – vždyť **cobas IT** middleware se v laboratořích osvědčil.

Jedním z důvodů je, že se firma Microsoft rozhodla ukončit vývoj produktu, který byl klíčový, a to doplněk prohlížeče Microsoft Silverlight. Podpora bude ukončena v říjnu roku 2021. Nemusíte mít ale obavy, že v tento den přestanou naše systémy s **cobas IT** middleware pracovat – jen by nastaly problémy se zobrazováním klienta programu na nových počítačích, které by již Silverlight nepodporovaly.

Jaké funkce vám **cobas® infinity central lab** přináší?

Základní vlastnosti a logiku vidíte na obrázku č. 1.

Jsou to všechny nejčastěji používané funkce: zpracování objednávek vzorků, skenování a třídění vzorků, řízení pre-analytických systémů, zpracování na analyzátořích i třetích stran, kontrola kvality, validační modul, archivace včetně řízení postanalytických přístrojů a nástroje pro reporting.

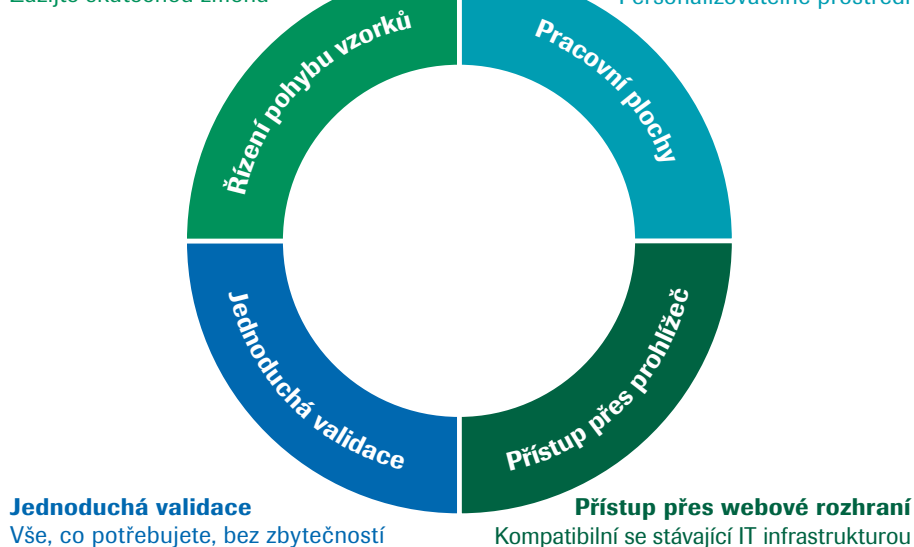
Zajímavostí je, že se **cobas® infinity central lab** stává celosvětově jediným systémem typu middleware, který bude firma Roche nabízet. Díky tomu se programátoři mohou plně soustředit na vývoj tohoto produktu. A také proto systém nabízí již nyní více než 140 ovladačů k přístrojům

### Řízení pohybu vzorků

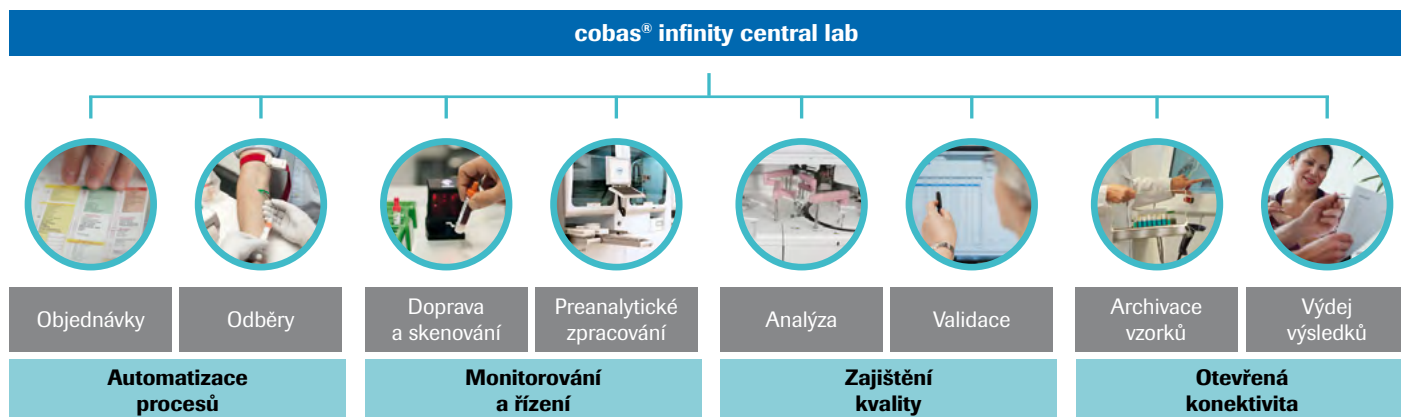
Zažijte skutečnou změnu

### Koncepce pracovních ploch

Personalizovatelné prostředí



▲ Obr. č. 1: Klíčové vlastnosti cobas® infinity central lab



▲ Obr. č. 2: Ucelené řešení **cobas® infinity central lab** zefektivňuje provoz laboratoře

z portfolia Roche i analyzátorů třetích stran.

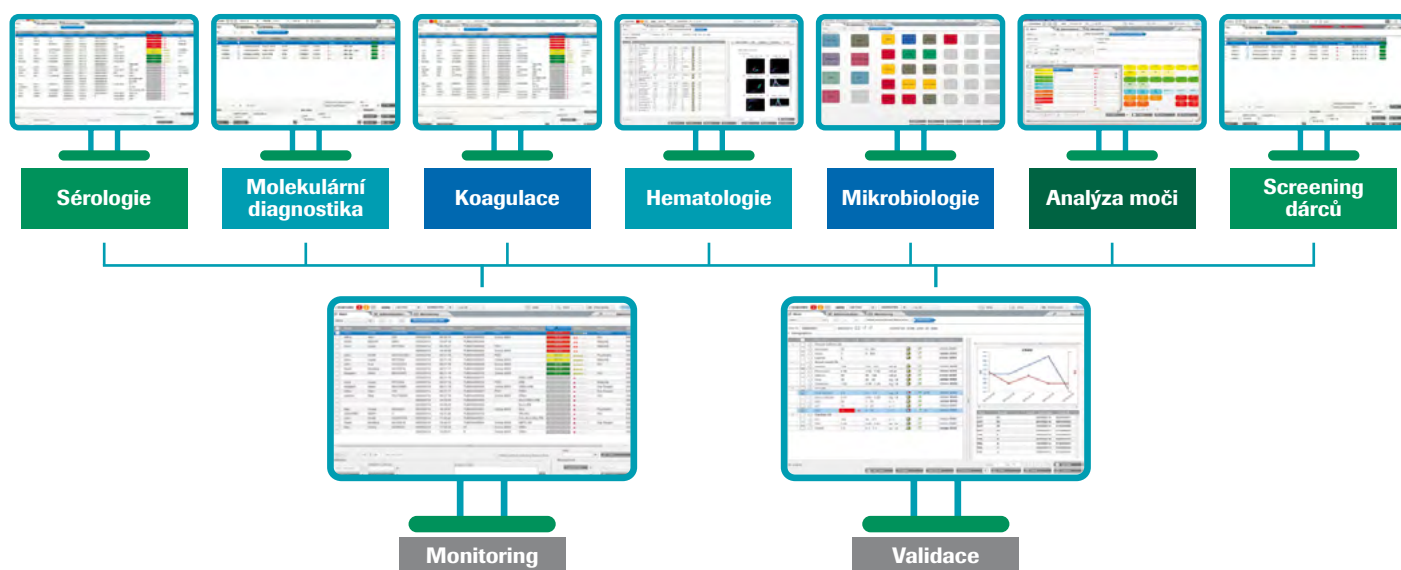
Jednou z výhod, kterou jistě ocení i vaši správci informačních systémů, je podpora více typů internetových prohlížečů. Jsou to Windows® Internet Explorer, Mozilla® Firefox® a Google® Chrome®. Další novinkou je, že již nebudete potřebovat zvláštní počítač pro administraci a jiný pro rutinní provoz. Nově je vše možné

spravovat v jednom prohlížeči. My vám jen nastavíme, k čemu má mít příslušný odborný pracovník přístup.

Systém **cobas® infinity central lab** je zvláště vhodný do víceoborových laboratoří, kde najde největší uplatnění, zahrnuje totiž podporu oblastí SWA, hematologie, mikrobiologie a analýzy moči. Základní filozofii pracovních ploch vidíte na obrázku č. 2.

### **Přínos cobas® infinity central lab**

Funkcionalita nového systému se dá shrnout takto: To, co jste měli rádi v systému PSM anebo **cobas IT** middleware, bylo plně integrováno do nového systému **cobas® infinity central lab** a k tomu bude přidáno ještě něco navíc. Detailnější informace o novém **cobas® infinity central lab** přineseme v některém z následujících čísel časopisu.



▲ Obr. č. 3: **cobas® infinity** lze využít a zároveň přizpůsobit pro různé oblasti laboratorní práce



#### **Mgr. Ondřej Šimek**

ROCHE s.r.o., Diagnostics Division

Kontakt: [ondrej.simek@roche.com](mailto:ondrej.simek@roche.com)

Produktový manager pro IT, workflow a technické konzultace. Působí ve společnosti Roche jako specialista v oblasti konfigurace a instalace softwarových řešení pro POCT a SWA. V rámci konzultačního týmu se podílí na projektových přípravách nových laboratoří. Volný čas nejraději tráví v přírodě, nebo vyráží za sportem a nově se věnuje pracím na zahradě.



„Vitajte v centre zákaznickej podpory Roche!...“ ozýva sa automatický odkazovač z telefónu pred spojením s „Varšavou“. Chvilka ticha a sme v spojení. Už niekoľko rokov je možnosť v prípade potreby kontaktovať zákaznicke centrum firmy Roche Diagnostics. Myšlienku zriadiť RCSC (Roche Customer Support Centre), zákaznicke centrum podpory pre východnú Európu sa podarilo v roku 2014. Po mnohých debatách a analýzach padla voľba na hlavné mesto Poľska, Varšavu. Samotný názov nie je veľmi užívateľsky prívetivý, medzi pracovníkmi a zákazníkmi sa rýchlo udomácnil výraz z ang. hub. Hub vznikol hlavne za účelom podpory servisu v teréne a zvýšenia efektivity servisných služieb. Rovnaké centrá ako vo Varšave boli zriadené aj v Anglicku, Španielsku či Francúzsku.

## Vitajte v centre zákaznickej podpory Roche!...

**Mgr. TOMÁŠ TARČÁK**

*Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o. – Regional Customer Support Center*

Hub je prvou líniou kontaktu so zákazníkom. Poskytuje odbornú pomoc pri riešení technických alebo aplikačných problémov. Práca spočíva v prijímaní telefonátov a emailov, prostredníctvom ktorých sme informovaní o poruchách analyzátorov. Problémy následne analyzujeme a posudzujeme ich závažnosť. Veľkú časť problémov sme schopní riešiť na diaľku, cez telefón alebo prostredníctvom internetového pripojenia. Ak je problém náročnejší alebo vyžaduje výmenu náhradného dielu, kontaktujeme servisný tím v teréne.

Od založenia majú v hube svoje zastúpenie okrem Českej republiky a Slovenska aj Maďarsko, Poľsko, Rusko a Litva. Členenie a fungovanie tímov jednotlivých krajín je rôzne v závislosti od veľkosti krajiny a jej potrieb. Česko-Slovenský tím má momentálne 8 členov. Je rozdelený do 2 skupín. 1. skupina sa stará o SWA (Serum Work Area) a HosPoc (Hospital Point Of Care), 2. skupina o RTD (Roche Tissue Diagnostics) a RMD (Roche Molecular Diagnostics). Samostatnou skupinou je IT tím, ktorý rieši IT problémy na oboch frontoch. Od roku 2018 bol spustený nový pilotný program externého pracovníka hubu, ktorý nepracuje priamo z Varšavy, ale z Bratislavy alebo Prahy. Zmena lokality poskytuje pracovníkovi možnosť vycestovať k zákazníkom a riešiť problémy priamo v teréne.

Okrem toho nám vzájomný osobný kontakt pomáha budovať lepšiu spoluprácu.

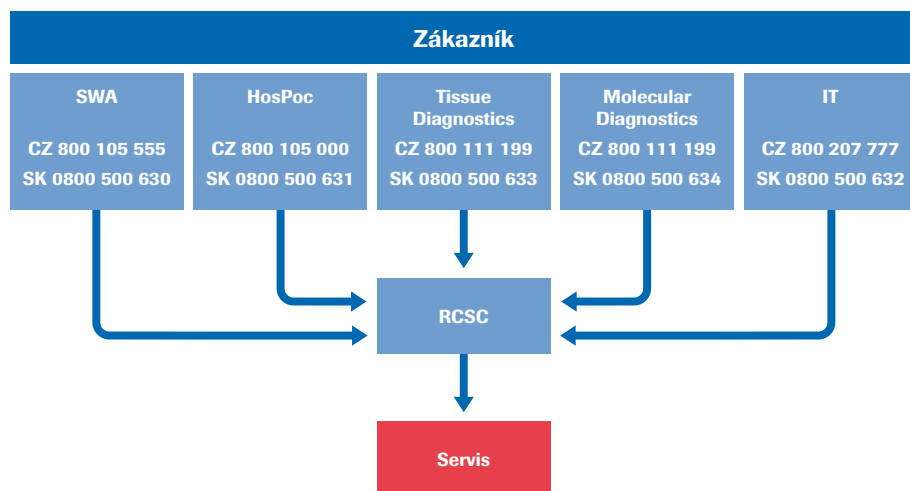
V neposlednom rade hub funguje ako školiace pracovisko, kde poskytujeme

školenia pre členov servisných tímov a pracovníkov hubov z celej Európy. Organizujeme prezentácie analyzátorov pre zákazníkov, študentov lekárskeho odboru a pracovníkov ostatných oddelení Roche Diagnostics.

Jednou z najväčších výhod hubu, ako centra podpory pre viacero krajín EU, je vzájomné zdieľanie skúseností, vedomostí a tímová spolupráca. V rámci hubu pravidelne organizujeme technické, aplikačné a iné stretnutia, kde diskutujeme o aktuálnych problémoch v jednotlivých krajinách a ich možných riešeniach.

V krátkosti sme sa Vám snažili priblížiť, ako to vyzerá na druhej strane linky. Práve Vám čo najviac meraní bez poruchy, dovtedy dopytujú.

S pozdravom, kolektív RCSC





## PŘEDSTAVUJEME NOVÉ KOLEGY



**Ing. Denisa Čižmárová**

**Aplikačná a technická podpora**

CoaguChek® XS/Pro/Pro2, AccuTrend®, AccuChek®, Urisys® 1100, **cobas h 232**, **cobas b 101**, **cobas b 221**, **cobas b 121**, **cobas b 123**, **cobas u 411**, **cobas u 1100**, Urisys® 2400, **cobas® 6500**, AVL 9180



**RNDr. Daniela Grejtáková, PhD.**

**Aplikačná podpora**

**cobas® 4800**, **cobas® 6800**, LightCycler® 1.5, LightCycler® 2, LightCycler® 96, LightCycler® 480, MagNA Pure 96, MagNA Pure 24, MagNA Pure Compact, **cobas® Liat®**



**Mgr. Zuzana Grolmusová, PhD.**

**Aplikačná podpora**

**cobas® 6000**, **cobas® 8000**, COBAS INTEGRA® **400 plus**, **cobas e 411**, **cobas c 111**



**Dominik Hanák**

**Technická podpora**

**cobas® 6000**, **cobas® 8000**, COBAS INTEGRA® **400 plus**, **cobas e 411**, **cobas c 111**



**Ing. Tadeusz Kufa**

**Technická podpora**

**cobas IT** middleware, **cobas IT 1000**, **cobas® link**, Nport, connect2, Fortigate, PVT, backup pro NPT



**Peter Šurina, DiS.**

**Aplikačná a technická podpora**

Benchmark platform (Ultra, GX, XT)

**Technická podpora**

**cobas® 4800**, **cobas® 6800**, LightCycler® 1.5, LightCycler® 2, LightCycler® 96, LightCycler® 480, MagNA Pure 96, MagNA Pure 24, MagNA Pure Compact, **cobas® Liat®**



**Mgr. Tomáš Tarčák**

**Aplikačná podpora**

**cobas® 6000**, **cobas® 8000**, COBAS INTEGRA® **400 plus**, **cobas e 411**



**Ing. Martin Tluchoř**

**Aplikačná a technická podpora**

CoaguChek® XS/Pro/Pro2/INRange, AccuTrend®, AccuChek®, Urisys® 1100, **cobas h 232**, **cobas b 101**, **cobas b 221**, **cobas b 121**, **cobas b 123**, **cobas u 411**, **cobas u 1100**, Urisys® 2400, **cobas® 6500**, AVL 9180





Moderní diagnostika kardiovaskulárních chorob se neobejde bez biochemických markerů v čele s troponinem a natriuretickými peptidy. Své použití nacházejí jak v akutních případech, tak i jako podpůrné nástroje k nastavení léčby. Úloze již dobře zavedených i experimentálních biomarkerů v celé škále klinických situací bylo věnováno satelitní sympozium Roche Diagnostics na XXVII. výročním sjezdu České kardiologické společnosti. Akce se konala v květnu v Brně.

## „Další využití kardiálních markerů“ Symposium Roche Diagnostics na XXVII. výročním sjezdu ČKS

MUDr. TEREZA RÁDL

### *Jak monitorovat kardiotoxicitu u onkologické léčby*

O použití biomarkerů v diagnostice kardiotoxicity jako možného vedlejšího účinku onkologické léčby hovořil prof. MUDr. Radek Pudil, Ph.D., z I. interní kardiologické kliniky LF UK a FN Hradec Králové: „Protinádorová terapie se stále zlepšuje, dosažení potenciálně výborného výsledku však může být limitováno nežádoucími účinky. Zároveň roste počet nemocných, kteří musí onkologickou léčbu podstoupit, a to jak v nemocniční, tak v ambulantní sféře. Znalost problematiky kardiotoxicity je klíčová nejen pro lékaře v onkologických a kardiologických centrech, ale také pro všechny ambulantní internisty, kardiology a praktické lékaře v rámci úzké meziprofesní spolupráce. Její důležitost podtrhuje i skutečnost, že kardiotoxicita je jednou z nejčastějších příčin úmrtí vyléčeného onkologického pacienta.“

Kardiotoxicita se může projevit i po velmi dlouhém časovém období. Akutní symptomy se objeví asi u 1 % nemocných a zahrnují snížení kontraktility myokardu, výskyt arytmií nebo akutní koronární syndrom, a tak se vyplatí u rizikových pacientů kontraktilitu sledovat. Subakutní poškození v řádu měsíců se vyvine cca u 2,5 % nemocných. Pozdní následky se mohou dostavit až více než

po roce a týkají se také pacientů léčených v dětství. „Platná doporučení diagnostiky a managementu kardiotoxicity vycházejí zejména z Odborného stanoviska European Society of Cardiology (ESC) jak ovlivnit kardiovaskulární toxicitu provázející léčbu nádorových onemocnění, které přeložila a do českého prostředí adaptovala Česká kardiologická společnost ČLS JEP. Kardiotoxicita sice klade vysoké nároky na zdravotnický systém, při racionální a efektivní organizaci práce by ale měla být zvládnutelná,“ doplnil k této problematice prof. Pudil.

Mezi nejvíce kardiotoxické látky patří antracykliny v čele s doxorubicinem. Tyto látky bohužel zejména v kombinaci s dalšími léky narušují integritu srdečních buněk a zvyšují produkci volných kyslíkových radikálů. „Antracykliny vykazují podle tradičního dělení tzv. ireverzibilní kardiotoxicitu prvního typu. Podle nových poznatků ale toto dělení ztrácí smysl, protože nevratné změny mohou vyvolat i látky, o nichž se dříve soudilo, že jsou z dlouhodobého hlediska bezpečné. Jedná se například o monoklonální protilátky včetně trastuzumabu nebo o tyrozinkinázové inhibitory. Také tyto léky způsobují srdeční selhání či arytmiie. Velmi nadějnou skupinou léčiv v onkologii jsou imunoterapeutika. Ukazuje se však, že takzvané check-point inhibitory jsou zatíženy velmi těžkou kardiotoxicitou,

kteřá se sice objevuje jenom u asi 1–2 % pacientů, nicméně dosahuje až 50 % mortality. Klinicky se projevuje atrioventrikulárními bloky, myokarditidou, perikarditidou, aterosklerotickým postižením koronárních tepen a dysfunkcí levé komory. Nefarmakologické postižení nastává například v důsledku radioterapie. Ta vede k poškození chlopní a perikardu, fibróze myokardu a patologiím mikro- i makrovaskulárních struktur,“ upozornil dále ve svém příspěvku prof. Pudil.

Diagnostika kardiotoxicity se podle prof. Pudila opírá o EKG, zobrazovací metody a vzácně i o tkáňovou biopsii. V každodenní praxi ovšem hraje nejvýznamnější roli kombinace echokardiografie a biochemických markerů. Srdeční selhání v důsledku chemoterapie je definováno jako pokles ejekční frakce levé komory (LVEF) o více než 10 % pod hranici normy, přetrvávající 2–3 týdny po ukončení jejího podávání. „Klinické příznaky kardiotoxicity je sice nutné sledovat, v době jejich manifestace ale už dochází k plnému rozvoji poškození. Kardiotoxické působení onkologické terapie je tak ideální zachytit ještě před objevením prvních symptomů. Základním krokem je včasná identifikace osob ve zvýšeném riziku a jejich užší sledování s odhalením už subklinických potenciálně reverzibilních změn. Stratifikace by měla proběhnout ještě před podáním onkologické léčby,“ zdůraznil prof. Pudil.

Anamnestické faktory rizikové pro rozvoj kardiotoxicity:

- věk pod 18 let
- věk nad 50 let pro trastuzumab, nad 65 pro antracykliny
- předchozí onkoterapie včetně radioterapie
- kouření
- obezita
- konzumace alkoholu

Rizikovým nemocným nebo těm, kteří podstupují rizikovou léčbu, by měla být před zahájením onkologické léčby

provedena echokardiografie kvůli pozdějšímu srovnání. Echo se u nízké rizikových opakuje po dosažení 200 mg/m<sup>2</sup> doxorubicinu nebo jeho ekvivalentu nebo po 4 cyklech trastuzumabu, u vysoce rizikových pak častěji. Po ukončení léčby je echokardiografické vyšetření doporučeno u osob, u kterých se objevila srdeční dysfunkce nebo byla podána vysoká dávka chemoterapeutik.

Užitečným nástrojem k úvodnímu odhadu rizika i zachycení nové toxicity jsou biomarkery, a to zvláště v kombinaci s echokardiografií. V tomto ohledu zmínil prof. Pudil například práci Cardinale D. et al., publikovanou v časopise *Circulation* v roce 2004. 703 pacientům léčeným vysokodávkovanou chemoterapií byla změřena koncentrace troponinu I před zahájením terapie a po jejím měsíčním podávání. Sledovaná byla míra srdečních příhod. Zdaleka nejvyšší byla ve skupině se zvýšenou koncentrací troponinu I v předchorobí, která dále s léčbou stoupala. Horších výsledků ale dosahovali i pacienti s vysokou úvodní koncentrací a následným poklesem. Naopak nemocní, kteří měli jak v úvodu, tak po podání chemoterapie troponin negativní, srdeční příhody prakticky nezaznamenali. Troponin byl v této práci schopný identifikovat vulnerabilní pacienty vyžadující užší sledování.

„V následných pracích od stejného týmu bylo zjištěno, že pacienti se zvýšenou koncentrací srdečního troponinu profitují ze zařazení ACE-inhibitorů (ACEi) do terapeutického režimu a že zvýšená koncentrace troponinu je nejenom nezávislým prediktorem kardiotoxicity při léčbě trastuzumabem, ale že vysoce senzitivní troponin je možné v tomto klinickém kontextu použít i k její monitoraci,“ upozornil prof. Pudil.

Kromě vysoce senzitivního troponinu lze k detekci kardiotoxicity použít také natriuretické peptidy a zejména NT-proBNP, jehož koncentrace se



▲ Slavnostní zahájení XXVII. výročního sjezdu České kardiologické společnosti

zvýšuje při tlakově objemovém přetížení kardiomyocytů. Také v případě NT-proBNP byla dokázána prediktivní hodnota jeho vzestupu pro rozvoj srdečního selhání a pro mortalitu. „To se potvrdilo rovněž na souboru nemocných z našeho pracoviště. U pacientů, kterým koncentrace NT-proBNP stoupala, došlo zpravidla během 1–2 měsíců k srdečnímu selhání. Limitací použití NT-proBNP ale je, že se většina protinádorové léčby podává s velkým množstvím tekutin, které samy o sobě mohou objemově myokard přetěžovat. Přesto patří široce dostupný NT-proBNP ke zlatému standardu diagnostiky kardiotoxicity s dobře zavedenou referenční mezí. Koncentrace nad 30 pg/ml zvyšují riziko rozvoje srdečního selhání asi šestkrát,“ doplnil k tomuto tématu prof. Pudil.

Kromě tradičních a dobře dostupných markerů s robustní evidencí (vysoce senzitivní troponiny, NT-proBNP) jsou v poslední době testovány také markery novější. Tyto novější eseje budou mít pravděpodobně význam v kombinaci s tradičními biomarkery, přičemž jejich použití zvýší senzitivitu a specifitu odhalení kardiotoxicity onkologické léčby.

Experimentální biomarkery kardiotoxicity onkologické léčby:

- Growth differentiation factor-15 (GDF-15)
- myeloperoxidáza
- glykogenfosforyláza BB
- Heart-type of fatty acid binding protein
- MicroRNA
- placentární růstový faktor (PlGF)

## Prognostické skórovací systémy a predikce rizika krvácení

O použití kardiomarkerů pro nastavení chronické antikoagulační a antiagregační léčby hovořil doc. MUDr. Mgr. Jiří Pařenica, Ph.D., z Interní kardiologické kliniky FN Brno – Bohunice: „Prognostické skórovací systémy patří mezi nástroje medicíny založené na důkazech a významné jsou zejména tehdy, pokud má jejich použití vliv na terapeutickou intervenci. S jejich pomocí lze identifikovat pacienty ve zvýšeném riziku, kteří budou profitovat z intenzivnější terapie. Typickým příkladem takových systémů je dvojice CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc a HAS-BLED, používaná k indikaci antikoagulační



léčby v prevenci cévní mozkové příhody (CMP) u nemocných s fibrilací síní (FiS) tak, aby pacienti měli co nejmenší riziko ischemické CMP za současného přijatelného rizika intrakraniálního krvácení.“

CHA2DS2-VASc a HAS-BLED hodnotí pouze demografické a anamnestické údaje. Do budoucna tak pravděpodobně bude jejich prognostická hodnota zvýšena doplněním o biomarkery. „Na základě velmi robustních dat z rozsáhlé randomizované klinické studie s apixabanem ARISTOTLE bylo vyvinuto skóre ABC (age, biomarkers, clinical history). Ukázalo se, že vůbec nejsilnějším prediktorem ischemické CMP je předchozí CMP nebo TIA, následované zvýšenou koncentrací NT-proBNP a troponinu I a méně významně věkem nemocného. Ostatní faktory jako městnavé srdeční selhání, periferní onemocnění tepen, pohlaví, diabetes nebo hypertenze v osobní anamnéze měly na prognózu minimální vliv. ABC-stroke skóre zahrnující věk, vysoce specifický troponin, NT-proBNP a anamnézu CMP ve srovnání s CHA2DS2-VASc lépe stratifikovalo riziko CMP/systémové embolie a riziko bylo nezávislé na léčbě pacienta (apixaban vs. warfarin),“ uvedl ve svém příspěvku doc. Pařenica.

Obdobné ABC skóre bylo vyvinuto na základě dat ze stejné studie i pro krvácení. Nejvýznamnějšími faktory se ukázala koncentrace stále ještě experimentálního GDF-15 a troponinu T, dále potom věk, koncentrace hemoglobinu a přítomnost předchozí krvácivé příhody. I v případě krvácení bylo ABC skóre superiorní ke skórovacímu systému HAS-BLED.

Obě skóre je možné snadno spočítat pomocí webové aplikace (dostupná na <https://www.ucr.uu.se/en/services/abc-risk-calculators>). ABC skórovací systém může pomoci při klinickém rozhodování například u níže rizikových nemocných s CHA2DS2-VASc skóre 1. U těchto pacientů je v tuto chvíli indikovaná antikoagulační léčba. Pokud je ale ABC systém vyhodnotí jako nízkorizikové, pak by mohla být část z nich ušetřena antikoagulační léčby a tím i zvýšeného rizika krvácení. Využití ovšem nachází i u pacientů rizikových.

GDF-15, tedy Growth differentiation factor-15, je cytokinin s pleiotropním účinkem, produkovaný v celé řadě orgánů. Fyziologicky se jedná o modulátor stresové odpovědi s protizánětlivým a antiapoptotickým efektem, který zpomaluje agregaci trombocytů. Vyšší koncentrace GDF-15 jsou spojeny s prodlouženým časem krvácení. Koncentrace GDF-15 v krvi zjednodušeně odráží kumulativní míru systémového zánětu a oxidačního stresu v organismu a je elevována během celé řady kardiovaskulárních a jiných onemocnění. Zvýšená koncentrace GDF-15 predikuje vyšší kardiovaskulární a nádorovou morbiditu a mortalitu a zvýšené riziko krvácení při antitrombotické a antikoagulační léčbě. Kromě predikce krvácení lze GDF-15 použít především v kombinaci s NT-proBNP v diagnostice chronického srdečního selhání nebo akutního koronárního syndromu (AKS).

Doc. Pařenica krátce pohovořil také o využití biomarkerů v nastavení duální protidestičkové léčby (DAPT) u nemocných po AKS. Současným zlatým standardem,

vycházejícím ze studie PLATO, je plošné roční podávání DAPT všem pacientům i za cenu rizika krvácení. K odhadu individuálního rizika krvácení po AKS lze použít skóre PRECISE-DAPT, validované na 15 000 pacientech po perkutánní koronární intervenci. Hodnota skóre PRECISE-DAPT 25 odpovídá riziku krvácení nad 1 % a u těchto pacientů se doporučuje zkrácená DAPT po dobu šesti měsíců.

Pět nejsilnějších prediktorů pro krvácení podle PRECISE-DAPT:

- věk
- předchozí krvácení
- leukocytóza
- zvýšená koncentrace hemoglobinu
- zvýšená kreatinová clearance

Studie PLATO zahrnovala i biomarkero-vou subanalýzu s hodnocením koncentrace GDF-15. Koncentrace GDF-15 nad 1 800 ng/l byla spojena s asi trojnásobným rizikem krvácení jak vstupně, tak i měsíc po AKS. „Do budoucna se tak předpokládá sestavení ekvivalentu ABC skóre pro nastavení DAPT po AKS. Podle modelu z časopisu Journal of the American Heart Association z roku 2017 by měl kromě koncentrace GDF-15 zahrnovat také věk, přítomnost diabetu a vstupní funkci ledvin. Tento model možná PRECISE-DAPT časem nahradí, jeho použití je ale třeba validovat ve velkých klinických studiích,“ upozornil doc. Pařenica. „GDF-15 je dosud pouze experimentálním markerem, který není hrazen ze systému veřejného zdravotního pojištění. Předpokládá se však, že tento marker bude výhledově značně nabývat na významu a jeho stanovení bude rutinně dostupné,“ podotkl doc. Pařenica.



#### MUDr. Tereza Rádl

Kontakt: terouk@gmail.com

LF MU v Brně dokončila v roce 2016. Profesně se věnuje anesteziologii a urgentní medicíně, kromě toho je studentkou postgraduálního studia. V současné době je na mateřské dovolené a píše pro zdravotnická média. Mezi její koníčky patří cestování, outdoorové sporty, běhání a amatérské divadlo.



Ve dnech 29.–30. 5. se uskutečnil I. ročník Pracovních dnů molekulární diagnostiky v Resortu sv. Kateřina v Počátkách. Na této akci se sešlo 96 laboratorních odborníků a klinických specialistů z České a Slovenské republiky. Její součástí byly jak přednášky, tak workshopy. Témata přednášek zahrnovala onkologii s důrazem na prevenci (CZECANCA, primární HPV screening), časnou diagnostiku a volbu či monitorování účinnosti léčby (NAVIFY® Mutation Profiler a NAVIFY® Tumor Board), dále pak virologii, kde se hovořilo především o HPV a virech hepatitid. Opomenuta nebyla ani problematika antibiotik, neinvazivní prenatalní diagnostika či testování dárců krve a nové technologie „target enrichmentu“ (HyperCap). Některá z těchto témat byla dále rozvedena v rámci workshopů, na nichž měli účastníci možnost hlouběji prodiskutovat problematiku screeningu HPV nebo se seznámit s přístroji společnosti Roche, ať už přímo (MagNa Pure 24, cobas® 4800, Lightcycler® 96, cobas® Liat®) nebo formou virtuální reality. Zájemci si zde mohli vyzkoušet rovněž diagnostické postupy a návrh léčby onkologicky nemocných pacientů. Součástí workshopů byla i prezentace posterů účastníků Pracovních dnů. V rámci workshopů se uskutečnilo oficiální představení nového diagnostického přístroje v České republice cobas® Liat®, který slouží ke kvalitativní detekci vybraných bakteriálních a virových onemocnění a spojuje výhody molekulární a point-of-care diagnostiky.

## Pracovní dny molekulární diagnostiky – Počátky 2019

Mgr. NIKOLA HUDEČKOVÁ, Ing. MICHAELA MADLEŇÁKOVÁ, Mgr. TOMÁŠ DRÁB, Ph.D.

*Všichni uvedení jsou z ROCHE s.r.o., Diagnostics Division*

Ráda bych touto cestou poděkovala všem zúčastněným za vytvoření profesionální a zároveň přátelské atmosféry na Pracovních dnech molekulární diagnostiky. Díky patří všem přednášejícím, kteří přednášky připravili a perfektně komentovali jednotlivá témata. Děkuji všem, kteří se podíleli na přípravě posterů a aktivně se účastnili jednotlivých workshopů během prvního konferenčního odpoledne. Poděkování patří také celému obchodnímu, marketingovému a právnímu oddělení, kteří se na realizaci pracovních dnů molekulární diagnostiky podíleli. V neposlední řadě patří poděkování zástupci servisního týmu, Ing. Ivanu Šturmovi.

*Mgr. Nikola Hudečková, Strategic Marketing Manager Molecular Diagnostics*







▲ Obr. č. 1: Prof. MUDr. Zdeněk Kleibl, Ph.D. (1.LF UK a VFN) během přednášky o projektu CZECA NCA



▲ Obr. č. 2: prof. MUDr. Jiří Sláma, Ph.D. (VFN) vrámci přednášky o české klinické studii LIBUŠE



▲ Obr. č. 3: prim. MUDr. Václava Adámková (VFN) během přednášky o léčbě antibiotik

#### Ing. Michaela Madleňáková, aplikační specialista Molecular Solutions

Velké pozitivum Pracovních dnů molekulární diagnostiky spatřuji ve výběru jednotlivých témat přednášek, pokrývajících širokou oblast molekulární laboratorní diagnostiky. Příspěvky měly vysokou odbornou úroveň a byly vedeny různou formou. Jednou z nejzajímavějších byla přednáška prof. MUDr. Jiřího Slámy, Ph.D., který na příkladech kazuistik demonstroval stále se zvyšující potřebu nového přístupu ke screeningu žen na přítomnost HPV pomocí HPV DNA testů. Zaujala mě i přednáška prim. MUDr. Daniely Duškové, Ph.D., o aktuální situaci v oblasti krevních transfuzí v ČR a narůstající potřebě lepšího testování přítomnosti různých patogenů pomocí NAT. RNDr. Jan Berka se ve svém příspěvku věnoval využití NGS v onkologii a přehledně představil AVENIO onkologické panely a novou technologii „target enrichmentu“. Součástí akce byly rovněž workshopy včetně prezentace přístrojů molekulárního portfolia společnosti Roche. Kladně hodnotím hlavně možnost vidět a vyzkoušet si stroje na místě, včetně nového systému **cobas® Liat®**, o který jevíli všichni přítomní značný zájem. V rámci programu byl prostor i na večerní neformální setkání. Za sebe pevně věřím, že pořádání Pracovních dnů molekulární diagnostiky se stane každoroční tradicí



▲ Obr. č. 4: prof. MUDr. Radan Brůha, CSc. (VFN), paní MUDr. Miluše Kreidlová (VFN) a MUDr. Monika Kamarytová (zářky, ROCHE) při moderované diskusi na téma Hepatitida B a C z pohledu klinika a laboratoře



▲ Obr. č. 5: Mgr. David Kasprák, Ph.D. (SPADIA LAB, a.s.) během onkologického workshopu



a oblíbeným místem setkání odborníků molekulární diagnostiky z České i Slovenské republiky.

### **Mgr. Tomáš Dráb, Ph.D., Marketing Manager Molecular Solutions**

Pracovní dny molekulární diagnostiky v Počátkách byly velmi příjemnou akcí zorganizovanou společností Roche. Jednalo se o dva dny nabité informacemi ze širokého okruhu témat, zpestřené neformálním večerním setkáním po oficiálním programu prvního dne. Díky této akci se spolu mohli potkat lidé z různých částí republiky a sdílet své zkušenosti.

Různorodost obsahu poskytla příležitost dozvědět se nové informace z celé řady oborů, které využívají metod molekulární diagnostiky. Po metodické stránce byly hlavním tématem detekce a analýzy nukleových kyselin, ať už pomocí (q) PCR nebo NGS, a jejich uplatnění při onkologické diagnostice nebo screeningu virových patogenů. Jednu z nejlepších přednášek měl prof. MUDr. Zdeněk Kleibl, který mluvil o svém unikátním projektu CZECANCA pro detekci mutací spojených s hereditárními nádorovými onemocněními. Velmi dynamická byla také přednáška prim. MUDr. Václavy

Adámkové o nadužívání a nesprávném užívání antibiotik. Zajímavé bylo rovněž vystoupení prof. MUDr. Radana Brůhy a MUDr. Miluše Kreidlové věnující se problematice hepatitidy B a C, možnostech jejich diagnostiky a léčby. Na přednášky pak navazoval blok workshopů, který program obohatil o praktický a interaktivní přístup, přičemž si zájemci mohli v menších skupinách prohlédnout přístroje nebo software. Mě stejně jako mnoho dalších lidí zaujala možnost nahlédnout do laboratoří ve virtuální realitě. K celkové atmosféře akce přispělo také neformální večerní setkání.



▲ Obr. č. 6: RNDr. Milan Richter (ROCHE) představuje portfolio tkáňové diagnostiky účastníkům ze Slovenské republiky (Mgr. Romana Valenčíková a Mgr. Lenka Dolešová, Onkologický ústav u sv. Alžbety, Bratislava)



▲ Obr. č. 8: Moderovaná diskuze - pohled onkologa a patologické laboratoře (MUDr. Milan Vošmik, Ph.D. a RNDr. Hana Vošmíková, FN Hradec Králové, Fingerlandův ústav patologie)



▲ Obr. č. 7: Kazeta na cobas® Liat® v rukou paní RNDr. Radmily Richterové (Krevní centrum s.r.o.)



▲ Obr. č. 9: Zájemce (na obrázku paní RNDr. Jiřina Jiřincová ze SZÚ, p.o. NRL pro chřipku) laboratoří virtuálně prováděl Ing. Jaroslav Vohánka, PhD. MBA. (ROCHE)





Letošní, již 23. IFCC-ELFM Euromedlab se konal v metropoli Katalánska ve druhé polovině května a nabídl návštěvníkům pestrý koktejl složený z aktuálních témat z oblasti klinické hodnoty a kvality biochemických metod, interpretace laboratorních výsledků a v neposlední řadě představil nové trendy vývoje laboratorní medicíny. Výrobci a dodavatelé laboratorních systémů a biomarkerů využili tuto akci k představení nových technologií, automatizovaných řešení, digitálních nástrojů a inovativních parametrů.

## IFCC-EFLM Euromedlab v Barceloně s jedním netradičním návštěvníkem

Ing. IGOR KLIMÍČEK, MBA

ROCHE s.r.o, Diagnostics Division

Stánek Roche (viz obr. č. 1) s hlavním sloganem „Where Care Leads“ nabídl přehledku nedávno uvedených mezioborových systémů a nových platform. Převážná většina byla integrována v rámci komplexního automatizovaného řešení CCM (**cobas**® connection modules), včetně napojení na systém potrubní pošty díky tzv. bulk loaderu. CCM přímo na výstavě propojoval preanalytický modul **cobas p** 612 pomocí obousměrné dráhy hned s několika cíli (viz obr. č. 2). Konkrétně se jednalo o novou vlajkovou loď segmentu SWA – **cobas**® pro integrovaná řešení, integrovaný systém močové analýzy **cobas**® 6500, koagulační analyzátor **cobas t** 711, kompletní řešení pro analýzu nukleových kyselin postavené na **cobas**® 6800 a nový preanalytický systém **cobas**® prime. Celé řešení bylo doplněno střednědobým archivem **cobas**® Add-On Buffer,

který slouží k automatickému opakování či doobjednání požadavků v rámci daného laboratorního dne, a společným výstupním zásobníkem pro vzorky **cobas**® Output Buffer. Kromě systémů napojených na CCM dopravník je potřeba zmínit další připravované SWA řešení **cobas**® pure (viz obr. č. 3), které v blízké budoucnosti doplní nedávno uvedený systém **cobas**® pro (viz obr. č. 4). Konsolidovaný systém **cobas**® pure bude pokrývat střední až nižší výkonový segment laboratoří, nicméně se stejnými kazetami bude také vhodnou zálohou **cobas**® pro. Samozřejmě je rovněž přítomnost shodných vylepšení a nových technologických prvků, které můžeme pozorovat u jeho staršího sourozence. Mezi mnohými zvláště rezonuje nový koncept automatické kalibrace AutoCal, další příspěvek pro zvýšení kvality výsledků **cobas**® SonicWash, maximální



▲ Obr. č. 2: Bulk loader CCM napojený na potrubní poštu

automatizace a nezávislost údržby a v neposlední řadě výrazně zvýšená reagenční a kalibrační stabilita souprav.

Návštěvníci našeho stánku měli také možnost seznámit se s novými řešeními a nástroji digitální diagnostiky. Představeny zde byly mezi jinými především: Navify TumorBoard, pro přesnější klinický rozhodovací proces, Roche Inventory Solution, nástroj pro skladový management, a VIEWICS LabOPS™, analytický a simulační software. Všechny digitální nástroje byly prezentovány názorně a prakticky kolegy z globálního marketingu ve vymezeném digitálním sektoru expozice (viz obr. č. 5). Zadní část výstavní plochy tvořilo podium, na kterém se v předem stanovených časech střídala sdělení uznávaných osobností z laboratorního a klinického světa, které prezentovaly své názory a zkušenosti např. z oblasti strategické a procesní konzultace, časné diagnostiky akutního infarktu myokardu, klinické hodnoty biomarkeru ovariální rezervy Elecsys® AMH plus a parametrů preeklampsie Elecsys® PlGF a sFlt-1, nových technologií pro mikrobiologickou laboratoř a digitálních řešení.

Další zajímavá témata, jako např. interference imunochemických metod, integrace laboratorních výsledků



▲ Obr. č. 1: Hlavní motto výstavy Roche



▲ Obr. č. 3: Připravovaný systém **cobas® pure**



▲ Obr. č. 5: Digitální „koutek“



▲ Obr. č. 4: Čtvrtá generace konsolidovaných modulárních systémů – **cobas®** pro integrovaná řešení



▲ Obr. č. 6: Kenji při práci

do celkového diagnostického algoritmu a „value based“ inovace managementu osob se srdečním selháním, byla probírána v odpoledních hodinových edukačních blocích, které zorganizovala firma Roche v separátních místnostech v 1. patře nad hlavní výstavou.

A dostáváme se postupně k onomu návštěvníkovi, jenž se stal hlavní atrakcí

nejen výstavy Roche. Byl to robot Kenji, kterého vyvinuli naši partneři z Hitachi a kterého mohli účastníci kongresu sledovat při plně automatizovaném doplňování reagentů na systému **cobas®** pro každý den ve třech desetiminutových sekcích, které s precizností sobě vlastní organizovali naši japonští kolegové (viz obr. č. 6). Byla to první ukázka robotizace v segmentu klinické laboratoře vůbec,

která otevírá otázku efektivního využití robotů v laboratoři budoucnosti.

Závěrem je možné konstatovat, že nejen robot Kenji, ale také další průkopnické inovace z oblastí automatizovaných technologií, digitálních nástrojů, biomarkerů a jejich klinických indikací potvrdily pozici Roche jako hlavního lídra v laboratorní medicíně.



### Ing. Igor Klimíček, MBA

Roche s.r.o., Diagnostics Division  
Kontakt: igor.klimicek@roche.com

V Oddělení marketingu vede tým zabývající se marketingovými a produktovými aktivitami zaměřenými na centralizovaná a integrovaná řešení. Ve volném čase „si dobíjí baterky“ sportem, má rád historickou literaturu a dobré víno.



Komiks, který vysvětlí, co je hemofilie, příběhy pacientů s roztroušenou sklerózou a nová inspirativní vystoupení známých osobností, pacientů i lékařů. To vše jsou novinky na portálu pro lékaře i veřejnost MojeMedicina.cz.

## Komiks o hemofilii, život s roztroušenou sklerózou a inspirativní příběhy MEDx Talks nově na MojeMedicina.cz

Mgr. VERONIKA BAČOVÁ

Roche s.r.o., Pharma Division

### *Medikomiks pomůže dětem porozumět hemofilii*

MojeMedicina.cz přichází na jaře s řadou nových materiálů a příběhů pro pacienty i veřejnost. Prvním z nich je novinka nejen pro děti: Medikomiks. Miki a Roni jsou komiksové hrdinové z tajuplného Mikrosvěta, lidského organismu. Cestují tělem a pomáhají v boji proti nepřátelským vetřelcům. Ondrovi, malému hemofilikovi, a jeho spolužákům pomáhají vysvětlit, co je hemofilie. Prolistujte si komiks na [www.medikomiks.cz](http://www.medikomiks.cz).

*„Jako máma dítěte s hemofilií takovou vzdělávací pomůcku vítám. Sama ze svých*



*zkušeností vím, že vysvětlit dětem tak složitě téma, jako je onemocnění, vyžaduje notnou dávku fantazie. Medikomiks v tom může skvěle pomáhat,*“ hodnotí projekt Kateřina Altmanová.

Medikomiks vyšel v dubnu při příležitosti Světového dne hemofilie (17. dubna). Další informace o hemofilii najdete na [www.menime-hemofilii.cz](http://www.menime-hemofilii.cz).

### *Život s roztroušenou sklerózou*

*„Moje pravá ruka začala neposlouchat a dělala úplně něco jiného, než jsem chtěla. Potom jsem přestávala mluvit. Tak mi udělali magnetickou rezonanci a zjistili, že tam mám ložiska a že je to roztroušená skleróza.“* Hanka, relaps-remitentní roztroušená skleróza



▲ Hanka

*„Zakopávání a brnění nohou. To byly první příznaky. Ale já jsem to ničemu nepřikládal, protože jsem měl půl roku předtím bouračku. Říkal jsem si, že to je asi skřípnutý nerv, a neřešil jsem to.“* Gabriel, primárně progresivní roztroušená skleróza



▲ Gabriel

Roztroušená skleróza (RS) má mnoho podob. Hanka žije s relaps-remitentní a Gabriel s primárně progresivní formou nemoci. Oba hovoří o tom, jaké to je žít s RS, jak nemoc ovlivňuje jejich každodenní život a co jejich život naplňuje.

Videa jsou součástí kampaně „Na každém spojení záleží“, která probíhá v květnu v souvislosti se Světovým dnem roztroušené sklerózy (30. května), a najdete je na stránce [www.naspojenizalezi.cz](http://www.naspojenizalezi.cz).

### **MEDx Talks o boji s nemocí a pomáhání**

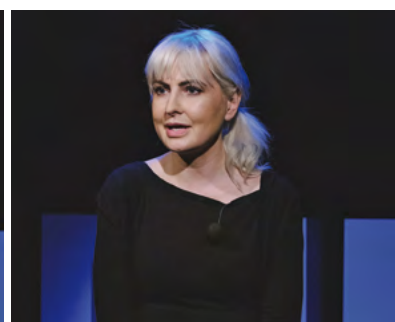
Iva Pazderková, Barbara Nesvadbová, kardiolog Petr Neužil, patolog Aleš Ryška nebo Daniel Kosta, tatínek Izabelky se spinální muskulární atrofií, nebo Nikola Samková, která ve 23 letech prodělala rakovinu prsu. Ti všichni vystoupili v březnu na jevišti studia Divadla pod Palmovkou a podělili se s ostatními o svůj příběh. Společným tématem některých vystoupení byl boj s nemocí. Jednak s tou vlastní v případě Ivy Pazderkové, která se léčí

s depresí, či Nikolý Samkové, která onemocněla rakovinou prsu, jednak s nemocí blízkých, jako například rodina Izabelky, která trpí vzácnou chorobou – spinální muskulární atrofií.

Dalším motivem MEDx Talks bylo pomáhání druhým tak, jako to dělá kardiolog prof. MUDr. Petr Neužil, CSc., patolog prof. MUDr. Aleš Ryška, Ph.D., anebo spisovatelka Barbara Nesvadbová. Ta pomáhá prostřednictvím své organizace „Be Charity“ dětem s postižením.

MEDx Talks přináší naději všem, kteří ji potřebují. Ať už jsou to pacienti, jejich blízcí nebo lidé, kteří se potýkají s jinými těžkými životními situacemi.

Záznamy všech vystoupení můžete zhlédnout na stránce [www.medxtalks.cz](http://www.medxtalks.cz).



▲ Nikola Samková, Petr Neužil, Iva Pazderková

▲ Aleš Ryška, Barbara Nesvadbová, Daniel Kosta s dcerou Izabelkou



#### **Mgr. Veronika Bačová**

Roche s.r.o., Pharma Division

Kontakt: [veronika.bacova@roche.com](mailto:veronika.bacova@roche.com)

V Roche má na starosti vše, co se týká digitální komunikace směrem k veřejnosti. Především vytváření obsahu a správu webových stránek [mojemedicina.cz](http://mojemedicina.cz) a [roche.cz](http://roche.cz). Spravuje také Facebook a Twitter MojeMedicina a YouTube kanál společnosti. MojeMedicina.cz a sociální sítě podávají interaktivní a srozumitelnou formou informace o diagnózách, vyšetřeních a typech léčby. Roche tak pomáhá lidem lépe se připravit na vyšetření, porozumět své nemoci anebo se dozvědět o nových způsobech léčby.



Je doba léta, teplých večerů a grilování. Pstruh na grilu je dobrou a jednoduchou variantou pro ty, kteří si chtějí s rodinou nebo přáteli užít toto potěšení a zároveň nezatížit tělo přemírou tuku.

## Pstruh na grilu

**Ing. RADOSLAV BLAŽEK, MBA**

ROCHE s.r.o., Diagnostics Division

Nejdřív je třeba pořídit kvalitní rybu. Pokud si pstruhy sami neulovíme v divokých pstruhových vodách, tak se vypravíme za nákupem. Já mám to štěstí, že bydlím nedaleko rybářství, a tak si můžu v pátek podvečer zajít koupit rybu přímo vytaženou ze sádky. Ryba musí být čerstvá a mít jasné oko. Jakmile je oko zakalené a ryba se nezdá být úplně čerstvá, je lepší zvolit jinou variantu.

### Co budete potřebovat:

2–3 středně velké pstruhy  
sůl, pepř, kmín  
trochu oleje  
bylinky

Pstruhy si nechám zabít i vykuchat, jde-li o pstruha duhového, je třeba jej ještě zbavit šupin, ideálně ostrou stranou nože opatrně proti šupinkám. Koupíte-li sive na amerického, tak ten šupiny nemá. Občas natrefíte na takzvaného pstruha lososovitého s narůžovělým masem. Jak jsem

se dočetl, žádný zvláštní druh pstruha lososovitého neexistuje a narůžovělá barva masa je způsobena pouze přídavkem do krmiva obyčejných pstruhů.

Pstruhy omyji zevnitř i zvenku studenou vodou a odstraním přebytečný šlem, ale nijak agresivně. Osolím zvenku i zevnitř a nechám chvíli odležet.

Grilování na rozpáleném dřevěném uhlí má svoje kouzlo a dodá pokrmu tu správnou vůni, ale já používám gril elektrický, je to o hodně snazší a rychlejší. Není také třeba používat speciální grilovací klece na ryby a ty pak pracně umývat. Rozehřeji gril na vyšší teplotu. Mezitím rybu lehce pokapu olejem, opeřím pomocí mlýnku na pepř a také trochu posypu drveným kmínem. Pokud mám k dispozici, tak dovnitř vložím nějakou bylinku, třeba trochu zelené petrželky nebo pár lístků máty. Rozpálený gril ideálně potřu trochou tuku, nejlépe kouskem slaniny, aby se ryba nepřipekla, a pak pstruhy opatrně položí na gril. Griluji asi 10–15 minut



z obou stran, až ryba získá správnou zlatavou barvu a uvnitř je hotová. Při obrácení je třeba otáčet rybu hřbetem dolů, aby nevytekla šťáva zevnitř.

U grilování pstruhů si pokaždé vzpomenu na našeho kolegu a přítele prof. Mírka Engliše, který měl tento pokrm v oblíbenosti a vždy nám připomínal, že chuť pstruha by se neměla přebíjet žádnými zbytečnými ingrediencemi. A pak také říkal, že nejlepší kousek masa ryby je malý lícni sval, který najdete, když špičkou nože odklopíte upečenou kůži pod okem.

Ideální přílohou grilovaného pstruha je čerstvý chléb a na zahrádce utržené rajče. Nebo méně dietní varianta – hlávkový salát se sladkokyselou zálivkou ze smetany na šlehání. Zbývá jen otevřít láhev vychlazeného suchého bílého vína a můžete servírovat.



**Ing. Radoslav Blažek, MBA**

ROCHE s.r.o., Diagnostics Division

Kontakt: radoslav.blazek@roche.com

Radoslav Blažek pracuje ve společnosti Roche Diagnostics od jejího založení v České republice, nyní na pozici vedoucího servisního oddělení. Kromě práce má rád sportování v přírodě, National Geographic a zahradničení.



Vychází čtvrtletně, uzávěrka tohoto čísla: 30. června 2019. Časopis je možné bezplatně objednat na adrese vydavatele. Stanoviska a názory podepsaných příspěvků se nemusejí shodovat se stanovisky a názory redakce a vydavatele.

Copyright © Roche 2019. Registrace MK ČR 7374, ISSN 1214-7672.

Foto na obálce: Koncept DNA (autor CI Photos) a ilustrace skupiny lidí (autor DODOMO), obojí Shutterstock.

