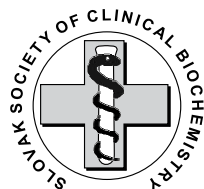




# LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA

Slovak Society of Clinical Biochemistry  
Časopis pre pracovníkov diagnostických laboratórií

Číslo 1/2007  
Ročník XII.



# LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA

Slovak Society of Clinical Biochemistry  
Časopis pre pracovníkov diagnostických

laboratórií

**Číslo 1/2007**

Ročník XII.

**PRESEDA REDAKČNEJ RADY**

Katarína Daňová

**VÝKONNÝ REDAKTOR**

Oliver Rác

**ODBORNÝ REDAKTOR**

Ján Mocák

**REDAKČNÁ RADA**

Anna Stecová, bývalá predsedkyňa redakčnej rady

Ján Balla, bývalý výkonný redaktor

Pavol Blažíček, bývalý výkonný redaktor

Roman Alberty

Peter Božek

Ladislav Cebecauer

Jozef Čársky

Ivan Čižmár

Michal Farkaš

Drahošlav Gábor

Ján Lepej

Tomáš Lipšic

Vladimír Kohút

Peter Kubisz

Ivan Pecháň

Hedviga Pivovarníková

Viera Spustová

Dagmar Syrová

Katarína Šebeková

Helena Šeboková

Ivana Šidlíková

Božena Švecová

Rastislav Valko

Juraj Volmut

Vydáva Slovenská spoločnosť klinickej biochémie pre SLS

Povolené Ministerstvom Kultúry SR pod reg. č. 1531/96

ISSN 1335-2644

# OBSAH

<b>EDITORIÁL</b> .....	5	QUALITY INDICATORS & SPECIFICATIONS FOR MEDICAL LABORATORIES .....	44
Daňová Katarína, prezident SSKB		<i>Ricós Carmen Aguila</i>	
<hr/> <b>PÔVODNÉ VEDECKÉ PRÁCE A PREHLADY</b> <hr/>		Laboratoris Clínic Hospital Vall D'hebron, Barcelona, Spain	
NEURÓN-ŠPECIFICKÁ ENOLÁZA A SKLERÓZA MULTIPLEX.....	8	ŠIRŠÍ KONTEXT SYSTÉMOV HODNOTENIA ČINNOSTI ORGANIZÁCIÍ A ICH VZŤAH K HODNOTENIU KVALITY KLINICKÝCH LABORATÓRIÍ.....	49
<i>Ondrkalová Marta, Kalnovičová Terézia, Štofko Juraj, Traubner Pavel, Turčáni Peter</i>		<i>Kováč Gustáv, Porubenová Anna</i>	
1. Neurologická klinika Lekárskej fakulty UK a FNŠP, Bratislava		Ústav chémie, klinickej biochémie a laboratórnej medicíny, Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava	
PLAZMATICKÉ HLADINY KYSELINY MOČOVEJ U PACIENTIEK SO SKLERÓZOU MULTIPLEX – KLINICKÝ VÝZNAM.....	11	SKÚSENOSTI Z PRÍPRAVY A UDRŽOVANIA AKREDITÁCIE V KLINICKÝCH LABORATÓRÁCH .....	53
<i>Kalnovičová Terézia, Traubner Pavel, Turčáni Peter</i>		<i>Špaček Lubomír</i>	
1. Neurologická klinika Lekárskej fakulty UK a FNŠP, Bratislava		Poradenská činnosť systémov manažérstva kvality v zdravotníckych laboratóriách, Bratislava	
SKLERÓZA MULTIPLEX: CYTOSKELETÁLNE MARKERY AXONÁLNEJ DEGENERÁCIE.....	15	K DISKUSII O INDIKÁTOROCH KVALITY V LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKE V SR .....	58
<i>Kalnovičová Terézia, Traubner Pavel, Turčáni Peter</i>		<i>Kováč Gustáv, Porubenová Anna, Balla Ján</i>	
1. Neurologická klinika Lekárskej fakulty UK a FNŠP, Bratislava		Ústav chémie, klinickej biochémie a laboratórnej medicíny, Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava	
SPÔSOBILOSŤ MERANIA KRVNÉHO TLAKU .....	21	Analyticko-diagnostické laboratórium ADL s.r.o., Prešov	
<i>Petrik Jozef, Petriková Elena</i>		NEDOSTUPNÁ DOSTUPNOSŤ.....	62
Katedra integrovaného manažérstva, Hutnícka fakulta, Technická univerzita Košice, Stredná zdravotnícka škola Milosrdného Samaritána, Svidník		<i>Lepej Ján, Rácz Oliver, Sečník Peter</i>	
<hr/> <b>LABKVALITA 07 – SIELNICA, HOTEL KASKÁDY, 11. 9. 2007</b> <hr/>		Inštitút nukleárnej a molekulovej medicíny Košice, Lekárska fakulta Univerzity P.J. Šafárika Košice, Sk-lab s.r.o. Klinické laboratórium, Lučenec	
INTEGRATION OF DATA DERIVED FROM BIOLOGICAL VARIATION INTO THE QUALITY MANAGEMENT SYSTEM .....	26	CÍLE A DOSAVADNÍ PŮSOBNÍ NÁRODNÍHO AUTORIZAČNÍHO STŘEDISKA PRO KLINICKÉ LABORATOŘE ČLS JEP (NASKL).....	62
<i>Ricós Carmen Aguila</i>		<i>Jabor Antonín</i>	
Laboratoris Clínic Hospital Vall D'hebron, Barcelona, Spain		Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, Česká republika	
ANALYTICAL GOALS (ANALYTICAL QUALITY SPECIFICATIONS).....	29	INTERNÉ AUDITY A ZABEZPEČENIE KVALITY Z POHLADU NORIEM PRE KOMPETENTNOSŤ KLINICKÝCH LABORATÓRIÍ.....	63
<i>Petersen Per Hyltoft</i>		<i>Czocher Tibor</i>	
Norwegian Quality Improvement of Primary Care Laboratories, Division for General Practice, University of Bergen, Bergen, Norway		Slovenská národná akreditačná služba, Bratislava	
ANALYTICKÁ KVALITA A EXTERNÁ KONTROLA .....	38	INDIKÁTORY ANALYTICKÉ KVALITY V KLINICKÝCH LABORATÓRIÁCH .....	64
<i>Petersen Per Hyltoft</i>		<i>Friedecký Bedřich, Kratochvíla Jozef, Budina Marek</i>	
Norwegian Quality Improvement of Primary Care Laboratories, Division for General Practice, University of Bergen, Bergen, Norway		SEKK Pardubice, Česká republika	
KOMPLEXNOSŤ A KVALITA – POHLAD NA INDIKÁTORY KVALITY PRE KLINICKÉ LABORATÓRIÁ .....	64	<i>Kapalla Marko</i>	
<i>Kapalla Marko</i>		Inštitút laboratórnej diagnostiky, Alpha medical a.s.,	

Ružomberok

**SYMPÓZIUM LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKY –  
SIELNICA,  
HOTEL KASKÁDY, 10.–12. 9. 2007**

VÝSLEDKY ŠTÚDIA DEPAC – SÚČASNÝ STAV  
SLOVENSKEJ DIABETOLÓGIE .....65

*Michálek Jozef*

Národný endokrinologický ústav, Lubochňa

DIAGNOSTIKA DIABETES MELLITUS  
U DOSPELÝCH A DIAGNOSTIKA GESTAČNÉHO  
DIABETES MELLITUS .....65

*Franeková Jana*

Institut klinické a experimentálnej medicíny, Pracoviště  
laboratorních metod, Praha. Ústav klinické biochemie,  
Fakultní nemocnice Ostrava, Česká republika

SELFMONITORING A KONTINUÁLNE  
MERANIE GLYKÉMIE .....67

*Doničová Viera, Donič Viliam*

1. interná klinika fakultnej nemocnice L. Pasteura a Ústav  
fyziológie Lekárskej fakulty UPJŠ, Košice

STANOVENIE C-PEPTIDU V PRAKTICKEJ  
DIABETOLÓGII.....68

*Janco Andrej, Olekšák Eduard, Jancová Alena, Rácz Oliver*

JAAT Style s.r.o., súkromná diabetologická a interná  
ambulancia, MEDY s.r.o., Lekárska fakulta Univerzita

P.J. Šafárika, Košice

DIABETES NIE JE LEN O GLYKÉMII..... 68

*Pecháň Ivan, Daňová Katarína*

Oddelenie laboratórnej medicíny, Národný ústav  
srdcových a cievnych chorôb Bratislava

SÚČASNÁ LIEČBA DIABETES MELLITUS  
A JEJ PERSPEKTÍVY ..... 69

*Vozár Juraj*

Jesenius Samaria s.r.o. Diabetologická ambulancia  
neštátnej polikliniky, Šamorín

LIEČBA CHORÉHO S DIABETES MELLITUS  
V NEMOCNICI ..... 70

*Babčák Marián*

1. interná klinika Fakultnej nemocnice J.A. Reimana  
v Prešove a Fakulta zdravotníctva Prešovskej univerzity

HB A1C – HARMONIZÁCIA VÝSLEDKOV  
V SLOVENSKEJ REPUBLIKE..... 70

*Balla Ján, Kováč Gustáv, Farkaš Michal, Blažíček Pavol*

Analytické-diagnostické laboratórium ADL Prešov,  
Ústav chémie, klinickej biochémie a laboratórnej medicí-  
ny, Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava, Nemoc-  
nica s poliklinikou Trebišov, TOP-MED a.s.,  
Oddelenie klinických laboratórií, Bratislava

*Leto a s ním čas prázdnin a dovoleníek sa pomaly chýli ku koncu. Nasleduje jeseň plná sympózií a kongresov. Výnimočne netradičnou formou ako satelitné sympóziium Sympózia laboratórnej diagnostiky sa novozvolený Výbor SSKB SLS rozhodol usporiadať sympóziium Labkvalita 07.*

*S organizovaním odborného podujatia Labkvalita je nerozlučne spätá meno človeka – jedného z tých, ktorí celý svoj život zasvätili práci v odbore klinická biochémia – inžiniera Jána Ballu. Prebral žezlo po Palovi Blažičkovi a 6 rokov niesol na svojich pleciach vydávanie časopisu Laboratórna diagnostika. Aj prípravu tohtoročnej Labkvality 07 zvládol pre neho tradične – na výbornú. Využívam tento Editoriál na to, aby som mu osobne poďakovala za jeho neúnavnú, poctivú prácu. Rovnako si vďaku a obdiv zaslúžia všetci nemenovaní „obetavci“ pre odbor klinická biochémia, ktorí sa nedržia hesla “Dejte mi lidi, ja to udělám.”*

*Prajem Vám, aby ste si zachovali slnko v duši a úsmev na tvári, aj keď prídu pochmúrne dni bez slnka na oblohe a Vy budete mať pocit, že bojujete márne a ste neocenení. Mýlite sa, nič nie je zabudnuté.*

Vaša

Katarína Daňová

**PÔVODNÉ VEDECKÉ PRÁCE A PREHLADY**  
**SCLEROSIS MULTIPLEX**  
**MERANIE KRVNÉHO TLAKU**

---

## NEURÓN-ŠPECIFICKÁ ENOLÁZA A SKLERÓZA MULTIPLEX

---

ONDRKALOVÁ MARTA, KALNOVIČOVÁ TERÉZIA,  
ŠTOFKO JURAJ, TRAUBNER PAVEL,  
TURČÁNI PETER

1. NEUROLOGICKÁ KLINIKA LEKÁRSKEJ  
FAKULTY UK A FN, BRATISLAVA

### SÚHRN

Cieľom štúdie bolo analyzovať hladiny neurón-špecifickej enolázy (NSE) v cerebrospinálnom likvore (CSL) a v sére u pacientov so sklerózou multiplex (SM) a analyzovať vzťah medzi likvorovými hladinami NSE a počtom bunkových elementov. Vzorky likvoru boli odobraté lumbálnou punkciou od 35 pacientov (17 kontrol a 18 pacientov s diagnózou skleróza multiplex). Hladiny NSE v sére a CSL boli stanovené metódou ELISA. Výsledky analýz ukázali, že pacienti so sklerózou multiplex majú v porovnaní s kontrolnou skupinou neurologických pacientov signifikantne vyššie hladiny NSE v oboch analyzovaných telesných tekutinách. Likvorové hladiny NSE u SM pacientov s pleocytózou sú signifikantne vyššie ako u skupiny SM pacientov s normálnym počtom bunkových elementov, čo je v súlade s názorom, že chronický zápalový proces môže viesť k neuronálnemu poškodeniu.

**Kľúčové slová:** neurón-špecifická enoláza, skleróza multiplex, cerebrospinálny likvor, sérum

### SUMMARY

The aim of this study was to determine cerebrospinal fluid (CSF) and serum neuron-specific enolase (NSE) concentrations in patients with multiple sclerosis (MS) and to analyze their relationship with CSF cell count. Cerebrospinal fluid samples were obtained by lumbar puncture from 35 patients (17 controls and 18 MS patients) and serum/CSF concentration of NSE was determined by means of ELISA. The study shows that CSF/serum NSE concentrations were significantly higher in SM patients compared to controls and NSE CSF levels were more elevated in MS patients with pleocytosis than in MS patients with normal cell count.

**Key words:** neuron-specific enolase, multiple sclerosis, cerebrospinal fluid and serum

### ÚVOD

Skleróza multiplex (SM) je chronické autoimunitné zápalové demyelinizačné ochorenie centrálného nervového systému (CNS) s patologickými znakmi zápalu, demyelinizácie, straty axónov a gliózy. V iniciálnej relaps – remitujúcej fáze ochorenia prevládajú zápalové demyelinizačné zložky,

kým progresívne ochorenie je charakterizované neurodegeneratívnymi komponentami, ktoré vedú k extenzívnemu neuroaxonálnemu poškodeniu (4). Hlavným determinantom ireverzibilnej neurologickej disability u pacientov so sklerózou multiplex je axonálna degenerácia. K poškodeniu axónov dochádza už pri nástupe ochorenia a koreluje so stupňom zápalu v léziách. Táto axonálna strata zostáva klinicky tichá mnoho rokov, a k ireverzibilnej neurologickej disability dochádza až po prekročení prahovej hladiny straty axónov a po vyčerpaní kompenzačných zdrojov CNS (3). SM je charakteristická heterogenitou klinického priebehu, imunopatologických mechanizmov a odpovedí na terapiu. V tvorbe lézií sú zahrnuté rozdielne patogénne mechanizmy (8).

Pre garanciu presnej diagnózy a vhodnej terapie je po pri zobrazovacích metódach potrebná aj identifikácia takých biomarkerov, ktoré by odzrkadľovali aktivitu ochorenia, zaznamenali včasnú axonálnu patológiu a predikovali priebeh ochorenia.

Neurón-špecifická enoláza (NSE, EC 4.2.1.11, 2-fosfo-D-glycerát hydroláza) je špecifický proteín CNS, ktorý sa po poškodení nervového tkaniva uvoľňuje do extracelulárneho priestoru a následne do cerebrospinálneho likvoru (CSL). Nachádza sa v cytoplazme neurónov, hlavne v bunkových telách v okolí dendritov, ale tiež v axónoch (11).

V tejto súvislosti nás zaujímalo, či výskyt zápalu u pacientov so sklerózou multiplex zvyšuje likvorové hladiny NSE a tým podporuje neuronaxonálnu patológiu.

### PACIENTI A METÓDY

Analýzovaný súbor (n = 35) pozostával z kontrolnej skupiny (n = 17, priemerný vek 37,5 ± 10 rokov) zostavenej z pacientov s vertebrogénnymi chorobami, ktorí mali základné likvorologické parametre (celkové bielkoviny, albumín, chloridy, glukóza, elementy) v rámci fyziologickej normy, bez závažných celkových ochorení. Skupinu pacientov so sklerózou multiplex tvorilo 18 pacientov s priemerným vekom 37,1 ± 11,3 rokov. Všetci pacienti boli hospitalizovaní na I. neurologickej klinike LFUK a FN Bratislava. Každému pacientovi bola robená diagnostická lumbálna punkcia. Vzorky séra a cerebrospinálneho likvoru (CSL) boli odobraté v tom istom čase. Hladiny neurón-špecifickej enolázy boli stanovené pomocou enzýmového imunologického testu ENZYMUN-TEST-NSE. Tento test pri kvantitatívnej analýze NSE in vitro využíva monoklonálne myšie anti-NSE protilátky E17 a E21, ktoré sú špecifické pre gama-podjednotku enolázy.

Výsledky sú prezentované ako aritmetický priemer ± SD a sú spracované štandardnými štatistickými postupmi (Kolmogorov-Smirnov test, t-test).

### VÝSLEDKY

V tabuľke č. 1 sú porovnávané hladiny neurón-špecifickej enolázy (NSE) v sére a v cerebrospinálnom likvore (CSL) u kontrolných skupín od rôznych autorov. Výsledky jednotlivých autorov sa navzájom líšia, čo súvisí s roz-

**Table 1. Cerebrospinal fluid (CSF) and serum neuron-specific enolase (NSE) concentrations (ng/ml) in controls**

Citation	NSE- serum	NSE- CSF
Mokuno <i>et al.</i> , 1983		4,5 ± 1,2 (n = 18)
Jacobi and Reiber, 1988		10,8 ± 4,5 (n = 24)
Beelen <i>et al.</i> , 1993		7,1 ± 1,9 (n = 189)
Casmiro <i>et al.</i> , 2005	8,7 ± 3,9 (n = 109)	17,3 ± 4,6 (n = 109)
Selakovic <i>et al.</i> , 2005	4,5 ± 0,9 (n = 16)	2,8 ± 0,5 (n = 16)
Schaf <i>et al.</i> 2005	6,6 ± 1,8 (n = 40)	
Ondrkalova <i>et al.</i> , 2006	8,1 ± 2,3 (n = 17)	3,2 ± 1,3 (n = 17)

dielnosťou používaných metód na analýzu NSE, ako aj s počtom a charakterom kontrolnej skupiny (zdravé kontroly, resp. tzv. kontroly tvorené neurologickými pacientmi s fyziologickým likvorologickým profilom). V porovnaní s inými autormi sú hladiny NSE v CSL v našej kontrolnej skupine neurologických pacientov nízke a sú porovnateľné s hodnotami publikovanými Selakovicom a spol. (12). Analyzované hladiny neurón-špecifickéj enolázy (NSE) v cerebrospinálnom likvore (CSL) u pacientov so sklerózou multiplex (SM) sú uvedené v tabuľke č. 2. Pacienti so sklerózou multiplex majú v porovnaní s kontrolnou skupinou signifikantne vyššie hladiny NSE v oboch analyzovaných telesných tekutinách, pričom likvorové hladiny NSE u SM pacientov s pleocytózou (SM2; 6,65 ± 0,5, p < 0,05) sú signifikantne vyššie ako u SM pacientov s normálnym počtom bunkových elementov v cerebrospinálnom likvore (SM1; 5,46 ± 0,93). Hladiny NSE v sére sa medzi podskupinami SM1 a SM2 nelíšili.

## DISKUSIA

SM je chronické zápalové ochorenie bielej hmoty CNS charakterizované fokálnou infiltráciou T-bunkami a makrofágmi, demyelinizáciou, poškodením axónov a stratou neurologickej funkcie (Obr. 1.). Ochorenie je charakterizované vznikom početných zápalových ložísk v bielej hmote hlavne v okolí mozgových komôr, v corpus calosum, ktoré spája obidve hemisféry a v mozgovom kmeni a v bielej hmote miechy. Odrazom zápalu v cerebrospinálnom likvore je prítomnosť oligoklonálnej produkcie imunoglobulínov (v podobe tzv. oligoklonálnych pásov) a ich producentov plazmatických buniek, v akútnom štádiu aj prítomnosť zvýšeného počtu mononukleárných buniek, hlavne CD4+ lymfocytov.

Vznik zápalového ložiska je iniciovaný zmožením autoagresívnych T lymfocytov, ktoré sú schopné rozpoznať antigény myelínu (6).

Cieľom autoreaktívnych T lymfocytov sú imunodominantné epitopy štruktúrnych proteínov myelínu: MBP – myelínový bázický proteín, MAG – s myelínom asociovaný glykoproteín, PLP – proteolipidový peptid a MOG – myelín-oligodendrocytový glykoproteín. Imunodominantné epitopy, voči ktorým je autoreaktivita namierená sa

**Table 2. CSF and serum levels of neuron-specific enolase (NSE) in controls and SM (multiple sclerosis) patients.**

SM 1 – patients with normal CSF cell count, SM2 – patients with pleocytosis

Parameters	Controls(n = 17)	SM1(n=12)	SM2(n=7)
NSE-CSF (ng/ml)	3,22 ± 1,35	5,46 ± 0,93**	6,65 ± 0,50*** /*/
NSE- serum (ng/ml)	8,05 ± 2,35	13,5 ± 2,0***	13,5 ± 2,1***
Cell count (n/3)			
Mononuclears	1,8 ± 0,81,4 ± 1,1	2,0 ± 1,21,7 ± 1,2	21,6 ± 21,7*12,4 ± 3,9 **
Polynuclears			

Results compared to controls ( /\* / to SM1) are significant

\* p < 0,01, \*\* p < 0,001, \*\*\* p < 0,0001,

nachádzajú hlavne v molekule MBP. MBP sa považuje za najdôležitejší autoantigén v patogenéze SM (9). Hoci SM sa tradične považuje za ochorenie bielej hmoty, existujú práce, ktoré demonštrujú výskyt demyelinizačných lézií aj v šedej hmote. V kortikálnych léziách dochádza k neuronálnemu poškodeniu, k opuchu (swelling) a transekcii dendritov a axónov (3).

V tejto súvislosti nás zaujímalo, aké sú likvorové hladiny neurón-špecifickéj enolázy, markera neuronálneho poškodenia, u pacientov o sklerózou multiplex, a či hladinu NSE ovplyvňuje pleocytóza.

Glykolytický enzým enoláza (2-fosfo-D-glycerát hydro-láza, EC 4.2.2.22) katalyzuje premenu 2-fosfoglycerátu a fosfoenolpyruvátu. Je to dimér s molekulovou hmotnosťou 78 000 s tromi podjednotkovými typmi alfa, beta a gama. Gama/gama izoenzým existuje vo vysokých koncentráciách v bunkách neuroendokrinného alebo neuronálneho pôvodu a preto sa nazýva neuronálna NSE. Je to vysoko solubilný cytoplazmatický proteín, ktorý sa uvoľňuje pri neuronálnom poškodení. Relatívne nízke koncentrácie NSE boli identifikované aj v erytrocytoch, krvných doštičkách, plazmatických bunkách, lymfocytoch a tiež v stene kapilár a v myoepiteliálnych bunkách. Existenciou týchto neuronálnych zdrojov NSE sa vysvetľuje prítomnosť NSE v krvi za fyziologických podmienok. NSE sa po tkanivovom poškodení pomerne ľahko uvoľňuje do CSF a krvi s biologickým polčasom života 48 hodín (11). Zvýšené hladiny NSE v CSF a v sére boli zistené pri niektorých neurologických ochoreniach ako je mozgová ischémia, intracerebrálny hematóm, subarachnoidálne krvácanie (SAH), cerebrálna trauma, tumory CNS, zápalové ochorenia a konvulzívne choroby (11,14).

U pacientov so sklerózou multiplex sa signifikantné zmeny v likvorových hladinách NSE nepotvrdili (1), čo je v rozpore s našimi výsledkami. V našej skupine SM pacientov sme v porovnaní s kontrolnou skupinou zistili signifikantne zvýšené hladiny NSE v oboch sledovaných tekutinách (tab.2). Táto diskrepancia môže byť dôsledkom výskytu nízkych likvorových hladín NSE u pacientov, ktorí tvorili našu kontrolnú skupinu (tab. 1.), množstvom analyzovaných pacientov, ale aj faktom, že SM je ochorenie spo-



jené so značnou klinickou variabilitou s odlišnými imunopatologickými mechanizmami. Za prínos práce pokladáme zistenie, že SM pacienti s pleocytózou majú v porovnaní s SM pacientmi, ktorí majú normálny počet bunkových elementov v CSL, signifikantne vyššie likvorové hladiny NSE (tab. 2). Tento fakt podporuje názor, že chronický zápalový proces udržiavaný hlavne proinflamačnými cytokínmi, ktoré spolu s chemokínmi, adhezívnymi molekulami a metaloproteinázami modulujú patogénny proces, môže viesť k neuroaxonálnej patológii.

Axonálna degenerácia je hlavným determinantom ireverzibilnej neurologickej disability u pacientov so sklerózou multiplex. Axonálne poškodenie začína už pri nástupe ochorenia a koreluje so stupňom zápalu v léziách. Transekcia axónov spôsobená zápalovou demyelinizáciou sa považuje za hlavnú príčinu iniciálnej miernej disability u väčšiny SM pacientov. Zápal môže spôsobiť kontinuálne tkanivové poškodenie aj pri absencii klinickej manifestácie ochorenia. V chronickom štádiu ochorenia demyelinizované axóny degenerujú hlavne v dôsledku absencie trofickej podpory z myelínu. (3).

Doteraz bolo u pacientov so sklerózou multiplex identifikovaných množstvo pro- a anti- zápalových cytokínov v sére a v CSL. Niektoré markery, hlavne TNF-alfa alebo solubilné adhézne molekuly, metaloproteinázy, chemokínové receptory alebo makrofágový proteín MRP8/4 vykazujú s klinickou a MRI aktivitou určitú koreláciu, ale výsledky sú kontroverzné a nemajú rutinný charakter (8). Zo študovaných biomarkerov pomocou ktorých sa hodnotila axonálna degenerácia (neurofilamenty, aktín a tubulín, tau proteíny, 24-S-hydrocholesterol, apolipoproteín E, amyloidný prekurzorový proteín, N-acetylaspartátová kyselina, 14-3-3 proteín a NSE) sa ako sľubný marker ukazuje stanovenie neurofilamentov v CSL a N-acetylaspartát v súvislosti s magnetickou rezonančnou spektroskopiou (15).

## ZÁVER

Zistili sme, že pacienti so sklerózou multiplex (SM) majú v porovnaní s kontrolným súborom signifikantne vyššie likvorové a sérové hladiny neurón-špecifickej enolázy (NSE), markera neuronálneho poškodenia. Zistenie, že SM pacienti s pleocytózou majú signifikantne vyššie likvorové hladiny NSE ako pacienti s normálnym počtom bunkových elementov v CSL podporuje názor, že chronický zápalový proces môže viesť k poškodeniu neurónov. Výsledky potvrdzujú tiež názor, že z hľadiska neuroprotektie je u pacientov so sklerózou multiplex potrebná včasná protizápalová terapia.

## LITERATÚRA

1. Bartosik-Psujek, H., Stelmasiak, Z.: Biochemical markers of damage of the central nervous system in multiple sclerosis. *Ann Univ Mariae Curie Sklodowska / Med/* 2001; 56: 389–92
2. Beelen, N. A., Twijnstra, A., van de Pol, M., Menheere, P. P.: Neuron-specific enolase in cerebrospinal fluid of

patients with metastatic and non-metastatic neurological disease. *Eur J Cancer* 1993; 29A(2): 193–195.

3. Bjartmar, C., Wujek, J. R., Trapp, B. D. Axonal loss in the pathology of MS: consequences for understanding the progressive phase of the disease. *J. Neurol. Sci.* 2003; 206(2): 165–171.
4. Bruck, W., Stadelmann, C.: Inflammation and degeneration in multiple sclerosis. *Neurol Sci* 2003; 24(Suppl 5): S265–7.
5. Casmiro, M., Maitan, S., De Pasquale, F., Cova, V., Scarpa, E., Vignatelli, L.: Cerebrospinal fluid and serum neuron-specific enolase concentrations in a normal population., *Eur J Neurol* 2005;12(5): 369–374.
6. Havrdova, E., Zámečník, L.: Farmakoterapie roztroušené sklerózy mozkomšni. *Remedia* 1999; 9(4): 218–228
7. Jacobi, C., Reiber, H.: Clinical relevance of increased neuron specific enolase concentration in cerebrospinal fluid. *Clin Chem Acta* 1988; 177(1): 49–54.
8. Kornek, B., Lassmann, H.: Neuropathology of multiple sclerosis – new concepts. *Brain Red Bull* 2003;61:321–326.
9. Krejsek, J., Kopecký, O., Taláb, R.: Imunopatogeneze roztroušené sklerózy. *Neurologia pre prax* 2002; 5: 241–247.
10. Mokuno, K., Kato, K., Kawai, K., Matsuoka, Y., Yanagi, T., Sobue, I.: Neuron-specific (NSE) – a tumor marker in metastatic seminoma: a comparison of methods. *Lab Med* 1993; 17: 34–35
11. Ondrkalová, M., Kalnovičová, T., Štofko, J., Traubner, P., Turčáni, P.: Hladiny neurón-špecifickej enolázy pri ložiskovej ischémii mozgu. *Klin Biochem Metab* 2006; 14(35): 202–206.
12. Selakovic, V., Raicevic, R., Radenovic, L.: The increase of neuron-specific enolase in cerebrospinal fluid and plasma as a marker of neuronal damage in patients with acute brain infarction. *J Clin Neurosci* 2005; 12(5): 542–547.
13. Schaf, D. V., Tort, A. B. L., Fricke, D., Schestatsky, P., Portela, L. V. C., Souza, D. O., Rieder, C. R. M.: S 100B a NSE serum levels in patients with parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders* 2005; 11(1): 39–43.
14. Stevens, J., de Jager, C. K.: Neurone-specific enolase and N-acetyl-aspartate as potential peripheral markers of ischaemic stroke. *Eur J Clin Invest* 1999; 29 (1): 6–11.
15. Teunissen, C. E., Dijkstra, C., Polman, C. biological markers in CSF and blood for axonal degeneration in multiple sclerosis. *Lancet Neurology* 2005; 4(1): 32–41.

*Adresa pre korešpondenciu:*

Prof. MUDr. Peter Turčáni, PhD.  
1.neurologická klinika LF UK  
Mickiewiczova 13  
813 64 BRATISLAVA  
e-mail: peter.turcani@faneba.sk

---

## PLAZMATICKÉ HLADINY KYSELINY MOČOVEJ U PACIENTIEK SO SKLERÓZOU MULTIPLEX – KLINICKÝ VÝZNAM

---

KALNOVIČOVÁ TERÉZIA, TRAUBNER PAVEL,  
TURČÁNI PETER

I. NEUROLOGICKÁ KLINIKA LEKÁRSKEJ  
FAKULTY UNIVERZITY KOMENSKÉHO A FNŠP  
V BRATISLAVE

### SÚHRN

Peroxynitrit (ONOO-) je reaktívny oxidant, ktorý je schopný poškodzovať tkanivá a bunky. Tvorí sa v miestach zápalu reakciou oxidu dusnatého so superoxidovým radikálom. Kyselina močová (KM) je prirodzeným skavendžerom peroxynitritu. KM redukuje zápalovú demyelinizáciu pri experimentálnej alergickej encefalomyelitíde, zvieracom modeli SM. Niektoré štúdie naznačujú, že pacienti so sklerózou multiplex majú v porovnaní so zdravými kontrolami nižšie sérové hladiny KM, kým v iných štúdiách sa tieto rozdiely nepotvrdili. V prezentovanej práci sme zisťovali plazmatické hladiny kyseliny močovej u 140 neurologických pacientiek (68 so sklerózou multiplex, 42 so zápalovými chorobami CNS, epilepsiou a neuralgiou a 30 vekových a pohlavných kontrol). Výsledky analýz ukázali, že v porovnaní s kontrolnou skupinou ( $237,2 \pm 51,8 \mu\text{mol/L}$ ) sa signifikantne nižšie hladiny KM v plazme vyskytovali len u pacientiek so zápalovými chorobami CNS ( $183,8 \pm 43,1 \mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0,001$ ) a epilepsiou ( $185,1 \pm 70,3$ ,  $p < 0,05$ ), kým u SM pacientiek sa štatisticky významný rozdiel v priemerných plazmatických hladinách KM ( $214,0 \pm 55,6 \mu\text{mol/L}$ ) nepotvrdil. Podrobnou analýzou výsledkov sa zistilo, že štatisticky významný pokles koncentrácie KM v plazme ( $171,8 \pm 43,3 \mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0,001$ ) sa vyskytuje u SM pacientiek s poruchou hematoencefalickej bariéry. Naše výsledky poukazujú, že hladiny KM v plazme, resp. v sére sú vhodným biomarkerom na monitorovanie aktivity ochorenia SM.

**Kľúčové slová:** skleróza multiplex, kyselina močová, plazma, porucha hematoencefalickej bariéry

### SUMMARY

Peroxynitrite (ONOO-), a reactive oxidant formed by the reaction of nitric oxide with superoxide at sites of inflammation in multiple sclerosis (MS), is capable of damaging tissues and cells. Uric acid (UA), a natural scavenger of peroxynitrite, reduces inflammatory demyelination in experimental allergic encephalomyelitis. Some studies reported lower serum levels of UA in MS patients compared with controls, whereas other studies found no difference. We measured plasma uric acid levels in 68 MS patients and 42 patients with other neurological diseases (inflammatory diseases, epilepsy, neuralgia) and 30 age-

and sex-matched controls. In patients with inflammatory diseases ( $183,8 \pm 43,1 \mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0,001$ ) and epilepsy ( $185,1 \pm 70,3 \mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0,05$ ) there were significant lower plasma levels UA compared with controls ( $237,2 \pm 51,8 \mu\text{mol/L}$ ), but plasma levels of UA did not significant differ between SM patients ( $214,0 \pm 55,6 \mu\text{mol/L}$ ) and controls. Significant lower plasma levels UA ( $171,8 \pm 43,3 \mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0,001$ ) we found in MS patients with dysfunction of blood-brain barrier. Our results suggest that plasma uric acid could be used as a biomarker for monitoring disease activity in MS.

**Key words:** multiple sclerosis, uric acid, plasma, dysfunction of blood-brain barrier

### ÚVOD

Kyselina močová (KM) je prirodzene sa vyskytujúci produkt metabolizmu purínov, ktorý sa využíva ako diagnostický parameter pri rozličných ochoreniach. Nedávne štúdie poukazujú na významnú úlohu KM v procesoch, ktoré sú úzko spojené s ochranou organizmu pred cytotoxicky pôsobiacim voľnými radikálmi (4, 8, 10, 11, 15, 19, 20). KM pri fyziologických koncentráciách bráni tvorbe oxohémových oxidantov, ktoré vznikajú pri reakcii hemoglobínu s peroxidmi a chráni izolované membrány erytrocytov pred lipoperoxidáciou. Predpokladá sa, že fyziologickou úlohou kyseliny močovej u ľudí je udržiavať integritu hematoencefalickej bariéry a zabraňovať jej poškodeniu vplyvom peroxynitritu (ONOO-), toxického produktu NO a superoxidu, ktorý je produkovaný aktivovanými monocytmi a je implikovaný v patogenéze rozmanitých zápalových ochorení CNS, vrátane sklerózy multiplex (SM) (4, 7, 12). V tejto súvislosti sme sa v prezentovanej práci zamerali na analýzu plazmatických hladín KM u pacientiek so sklerózou multiplex v porovnaní s inými zápalovými a nezápalovými chorobami CNS s cieľom zhodnotiť klinické využitie tohto biochemického parametra.

### PACIENTI A METÓDY

Analyzovaný súbor pozostával zo 140 pacientiek, z ktorých 68 malo klinicky potvrdenú diagnózu skleróza multiplex (SM, priemerný vek  $36,9 \pm 11,6$  rokov), 18 neuralgiu (priemerný vek  $44,3 \pm 12,2$  rokov), 16 diagnózu zápalové ochorenie CNS (priemerný vek  $39,2 \pm 12,1$  rokov) a 8 epilepsiu (priemerný vek  $38,7 \pm 17,9$  rokov). Kontrolnú skupinu tvorilo 30 pacientiek s ľahšími vertebrogénnymi ochoreniami a likvorovým nálezom v rámci fyziologických hodnôt, bez celkových závažných ochorení, s priemerným vekom  $42,8 \pm 16,3$  rokov. Všetky pacientky boli hospitalizované na I. neurologickej klinike LF UK a FN. Každéj pacientke bola robená diagnostická lumbálna punkcia. Vzorky plazmy a cerebrospinálneho likvoru boli odobraté v tom istom čase a do analýzy boli uskladnené pri  $20^\circ\text{C}$ .

Plazmatické hladiny kyseliny močovej (KM) sme stanovili modifikovanou HPLC metódou s UV detekciou (285 nm) podľa Kalnovičová a spol. (5). Separácia sa

uskutočnila na kolóne Separon SGX C18 (3,3 × 15 mm, 5 µm, Tessek, ČR) elúciou fosfátovým tlmivým roztokom (60 mmol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 4,6 s 2 % acetonitrilu (v/v)). Do chromatografického systému sme injektovali supernatant získaný po deproteinizácii plazmy s kyselinou chloristou.

Výsledky prezentované ako aritmetický priemer +/- SD boli spracované štandardnými štatistickými postupmi (Kolmogorovov-Smirnov test). Významnosť rozdielov medzi priemermi bola testovaná pomocou *t*-testu.

## VÝSLEDKY

Plazmatické hladiny kyseliny močovej (KM) pacientov so sklerózou multiplex (SM), neuralgiou, zápalovými chorobami CNS, epilepsiou a kontrolného súboru sú uvedené v tabuľke č. 1. V porovnaní s kontrolnou skupinou (237,2 ± 51,8 µmol/L) sme významne nižšie plazmatické hladiny KM zaznamenali u pacientiek so zápalovými chorobami CNS (183,8 ± 43,1 µmol/L, *p* < 0,001) a u pacientiek s epilepsiou (185,1 ± 70,3 µmol/L, *p* < 0,05). Určitý pokles priemerných plazmatických hladín KM (214,0 ± 55,6 µmol/L) možno pozorovať aj u pacientiek so sklerózou multiplex (SM) (Tab. 1). Podrobnejšia analýza výsledkov ukázala, že koncentrácie KM v skupine SM boli veľmi nehomogénne a pohybovali sa v rozpätí od 116,7 do 320,4 µmol/L KM. 69,1 % (*n* = 47/68) pacientiek malo hodnoty KM v rozsahu kontrolnej skupiny (172,9 – 320,4 µmol/L), u 19,1 % (*n* = 13/68) pacientiek sa hodnoty KM pohybovali v rozpätí od 151,1 do 159,7 µmol/L. Táto skupina pacientiek (SM2) sa v porovnaní s SM1 skupinou (Ly/Mo = 1,6 ± 1,2) vyznačovala významne vyšším likvorovým pomerom lymfocytov a monocytov (Ly/Mo = 2,5 ± 1,9, *p* < 0,001), (Tab. 2). 11,8 % (*n* = 8/68) SM pacientiek malo hodnoty KM nižšie ako 140 µmol/L (116,7 – 135,7 µmol/L). Táto skupina (SM3) sa v porovnaní so skupinou SM1 (12,0 ± 2,5 g/L) a SM2 (11,2 ± 2,2 g/L) vyznačovala významne nižšími likvorovými hladinami IgG (9,46 ± 4,2 g/l, *p* < 0,05) (Tab. 2).

V tabuľke č. 3 sú uvedené plazmatické hodnoty KM u SM pacientiek, ktoré boli rozdelené do 4 skupín (13). Prvú skupinu tvorili SM pacientky s normálnymi likvorovými hladinami celkových bielkovín, druhú skupinu tvorili SM pacientky s poruchou hematoencefalickej bariéry (dBBB), tretiu skupinu SM pacientky s dBBB a intratekálnou syntézou IgG a štvrtú skupinu tvorili SM pacientky s intratekálnou tvorbou IgG bez dBBB. Z uvedených skupín znížené hladiny KM v plazme sa vyskytovali len u SM pacientiek, ktoré sa vyznačovali poruchou hematoencefalickej bariéry (MS2 a MS3), (Tab. č. 3). SM pacientky s poruchou BBB (QA > 7,4) mali priemerné hodnoty KM v plazme 171,8 ± 43,3 µmol/L (*p* < 0,05), (Tab. 4).

## DISKUSIA

Kyselina močová (KM) je prirodzene sa vyskytujúci produkt metabolizmu purínov, ktorý sa využíva ako diagnostický parameter pri rozličných ochoreniach. Nedávno sa ukázalo, že KM je účinný skavendžer molekúl alebo radikálov oxidačného stresu (20), ktorý vzniká v tkanivách

**Table 1. Plasmatic levels of uric acid (UA) in patients with neuralgia, epilepsy, multiple sclerosis (MS), inflammatory neurological diseases (IND) and controls**

Diagnosis	Age (years)	Uric acid (µmol/L)
Controls (n = 30)	42,8 ± 16,3	237,2 ± 51,8 (177,8 – 357,9)
Multiple sclerosis (n = 68)	36,9 ± 11,6	214,0 ± 55,6 (117,3 – 320,4)
Neuralgia (n = 18)	44,3 ± 12,2	227,8 ± 48,6 (161,0 – 332,8)
Inflammatory diseases (n = 16)	39,2 ± 12,1	183,8 ± 43,1** (130,6 ± 273,8)
Epilepsy (n = 8)	38,7 ± 17,9	185,1 ± 70,3* (118,1 – 340,0)

Results compared to controls are significant \* *p* < 0,05, \*\* *p* < 0,001

**Table 2. Parameters in multiple sclerosis patients (MS) with different levels of plasmatic uric acid (UA)**

	UA > 161 µmol/L	UA 136–160 µmol/L	UA < 136 µmol/L
<b>Patients (n)</b>	<b>47</b>	<b>11</b>	<b>8</b>
UA range (µmol/L)	172,9 – 320,4	151,1 – 159,7	116,7 – 135,7
UA-p (µmol/L)	236,1 ± 41,6	157,2 ± 4,5***	126,5 ± 8,3***
CSF-protein (g/L)	369,6 ± 186,9	344,5 ± 92,5	442,5 ± 190
s-Albumin (g/L)	45,6 ± 4,8	44,2 ± 5,2	43,6 ± 5,7
CSF-Albumin (g/L)	0,22 ± 0,10	0,23 ± 0,10	0,30 ± 0,2
Q Albumin	5,0 ± 2,6	5,29 ± 2,2	6,97 ± 4,6
s-IgG (g/L)	12,0 ± 2,5	11,2 ± 2,2	9,46 ± 4,2*
CSF-IgG (g/L)	0,054 ± 0,05	0,047 ± 0,04	0,052 ± 0,03
DL-index	0,94 ± 0,61	0,74 ± 0,44	0,97 ± 0,53
CSF-Lymphocytes (n)	11,3 ± 14,0	20,8 ± 28,2	6,5 ± 5,4
CSF-Monocytes (n)	8,3 ± 11,5	8,45 ± 9,2	5,4 ± 4,0
Ly/Mo	1,6 ± 1,2	2,5 ± 1,9**	1,5 ± 1,3
CSF glucose (mmol/L)	3,12 ± 0,4	3,11 ± 0,47	3,0 ± 0,34
CSF chloride (mmol/L)	122,3 ± 2,7	122,1 ± 1,74	121,9 ± 0,7

Results compared to UA>161µmol/L are significant

\**p* < 0,05, \*\* *p* < 0,01, \*\*\**p* < 0,000001

pri zvýšenej tvorbe voľných kyslíkových radikálov a pri nedostatočnej antioxidantnej ochrane organizmu. V tejto súvislosti nás zaujímalo, či sa tvorba radikálov spojená s patogenézou zápalových ochorení CNS, SM a epilepsie odrazí aj v zmenách v plazmatických hladinách kyseliny močovej, antioxidantnej látky a účinného odpratávača (scavengera) peroxynitritu. Výsledky analýz ukázali, že v porovnaní s kontrolnou skupinou majú zo sledovaných skupín pacientiek významne nižšie hladiny KM v plazme pacientky so zápalovými chorobami CNS a epilepsiou (Tab. 1). Zníženie

**Table 3. Cerebrospinal fluid parameters and plasma levels of uric acid in multiple sclerosis patients (MS). MS1 – normal levels of total proteins (TP), MS2 – disturbance of blood-brain barrier (dBBB), MS3 – dBBB + intrathecal synthesis of IgG (iIgG), MS4- iIgG without dBBB**

Parameters	MS1 (n = 27)	MS2 (n = 4)	MS3 (n = 4)	MS4 (n=13)
Age (years)	37,5 ± 11,9	34,0 ± 10,1	38,6 ± 12,9	37,3 ± 11,7
UA- plasma (µmol/L)	213,0 ± 60,9	160,7 ± 34,4	189,5 ± 55,7	226,9 ± 58,2
TP- CSF (g/L)	0,280 ± 0,075	0,552 ± 0,135	0,765 ± 0,34	0,355 ± 0,81**
Albumin-CSF (g/L)	0,175 ± 0,07	0,44 ± 0,05	0,43 ± 0,13	0,19 ± 0,04
Q Albumin	4,2 ± 1,4	9,61 ± 1,4	10,7 ± 3,9	4,2 ± 1,3
IgG - CSF (g/L)	0,026 ± 0,011	0,05 ± 0,02	0,156 ± 0,09	0,081 ± 0,04****
DL index	0,53 ± 0,08	0,47 ± 0,05	0,84 ± 0,45	1,61 ± 0,62****
Lymphocytes (n)	6,41 ± 7,1	24,5 ± 32,5	26,2 ± 21,5	16,7 ± 24,9*
Monocytes (n)	4,26 ± 3,7	19,5 ± 26,7	15,2 ± 14,9	8,6 ± 8,44*
Glucose (mmol/l)	3,18 ± 0,49	3,05 ± 0,18	3,04 ± 0,56	3,06 ± 0,27
Chloride (mmol/l)	122,0 ± 1,58	122,1 ± 1,4	121,3 ± 0,21	121,1 ± 0,96

Results compared to controls are significant  
\*p < 0,05, \*\*p < 0,001, \*\*\*\* p < 0,00001

**Table 4 Plasmatic levels of uric acid (UA) in multiple sclerosis patients and controls - nQA (QA -CSF albumin/serum albumin × 100)**

	QA	UA (µmol/L)
QA < 7,4 n = 54	4,24 ± 1,2	216,7 ± 55,6
QA > 7,4 n = 10	10,7 ± 3,2 ****	171,8 ± 43,3 *

Results compared to controls (nQA) are significant  
\* p < 0,05, \*\*\*\* p < 0,00001

priemerných plazmatických hladín KM sme zaznamenali aj u pacientiek so sklerózou multiplex, ale štatisticky významny pokles sa vyskytoval len u SM pacientiek s poruchou hematoencefalickej bariéry (BBB).

Zistené signifikantne nižšie priemerné plazmatické hladiny KM u pacientiek s epilepsiou (185,1 ± 70,3 µmol/L, p < 0,05) v porovnaní s kontrolným súborom (237,2 ± 51,8 µmol/L) sú pravdepodobne odrazom dysfunkcie BBB a antioxidantnej funkcie KM. Epilepsia je ochorenie, ktoré sa prejavuje spontánnym opakovaním sa epileptických zá-

chvatov. Pri rekurentných epileptických záchvatoch dochádza k vzostupu množstva voľných kyslíkových radikálov a ku generovaniu superoxidového radikálu v mozgu. Tvorba voľných radikálov môže indukovať záchvatovú aktivitu priamo inaktiváciou glutamínsyntetázy a tak umožniť abnormálnu tvorbu excitačného neurotransmitéra glutamátu a indukciu tvorby NO. Mozgové tkanivo je počas záchvatu hyperperfundované a hypermetabolizované. Počas záchvatu a krátko po ňom dochádza k otvoreniu hematoencefalickej bariéry (BBB) v dôsledku náhleho vzostupu systémového krvného tlaku a v dôsledku výraznej vazodilatácie, k vylúčeniu cerebrálnej autoregulácie, a k vzostupu pino-cytotickej aktivity v mikrovaskulatúre. Stupeň poškodenia BBB signifikantne závisí od rýchlosti stúpania TK (1,2).

Na signifikantnom znížení plazmatických hladín kyseliny močovej u pacientiek so zápalovými chorobami CNS (183,8 ± 43,1 µmol/L, p < 0,001) v porovnaní s kontrolným súborom (237,2 ± 51,8 µmol/L) sa pravdepodobne zúčastňuje existujúci oxidačný stres, skavendžerová aktivita KM a neadekvátna antioxidantná kapacita. Za normálnych podmienok mozog relatívne málo závisí od protektívnych účinkov KM pri oxidačnom strese. Za patologických podmienok, ako je napr. bakteriálna meningitída, dochádza v CNS k deplécii kyseliny askorbovej a k zníženiu antioxidantnej ochrany. Tento patologický proces je spojený s markantným zvýšením sérových a likvorových hladín alantoinu, oxidačného metabolitu kyseliny močovej (6).

Aj v patogenéze demyelinizačných ochorení, vrátane sklerózy multiplex, hrajú svoju úlohu voľné radikály, ktoré sa uvoľňujú pri aktivácii makrofágov. Organizmus v snahe chrániť CNS pred voľnými radikálmi mobilizuje antioxidanty, ktoré môžu preniknúť cez funkčnú hematollikvorovú bariéru. Pri nedostatočnej antioxidantnej ochrane mozog pravdepodobne využíva aj albumín s kyselinou močovou, ktoré sa do mozgu dostávajú cez porušenú hematollikvorovú bariéru. Pri sledovaní hladín nízkomolekulových antioxidantov v demyelinizačných pládoch a v bielej hmote SM pacientov sa zistilo, že redukovaná hladina glutationu (jedného z najvýznamnejších antioxidantov v CNS spolu s kyselinou askorbovou) korelovala so zvýšenou hladinou kyseliny močovej (9). Na účasť KM v antioxidantnej aktivite poukazujú aj niektoré štúdie, ktoré zistili, že pacienti so sklerózou multiplex majú v porovnaní s kontrolami signifikantne nižšie sérové hladiny KM (3,10,21). Niektoré štúdie však tento fakt nepotvrdili (11,17).

Aj v našom súbore SM pacientiek sme v porovnaní s kontrolnou skupinou (237,2 ± 51,8 µmol/L) zaznamenali len mierne zníženie priemerných plazmatických hladín KM (214,0 ± 55,6 µmol/L), pričom štatisticky významný pokles KM sa vyskytoval len u SM pacientiek s poruchou hematoencefalickej bariéry (BBB) (171,8 ± 43,3 µmol/L, p < 0,05). K podobným výsledkom došiel aj Toncev a spol. (21), ktorí zistili, že pri dysfunkcii BBB sa u SM pacientov vyskytujú signifikantne nižšie sérové hladiny KM (161,5 ± 23,6 µmol/L) v porovnaní s normálne funkčnou BBB (252,5 ± 25,9 µmol/L). Redukované sérové hladiny KM u SM pacientov sa vysvetľujú ako primárna konštitučná strata ochrany pred oxidačným stresom (11), ale aj ako sekundárny efekt

v dôsledku vychytávania peroxynitritu kyselinou močovou počas zápalovej aktivity tohto ochorenia (8). Nižšie hladiny KM v sére bývajú asociované s relapsom (3,10,21). Drulovic a spol. 2001 (3) zistili inverznú koreláciu medzi sérovými hladinami KM a aktivitou a trvaním ochorenia, a tiež tendenciu inverznej korelácie s disabilitou. Sérové hladiny kyseliny močovej sa pri benígnom a progresívnom priebehu ochorenia nelíšia (14). Niektorí autori (3,10) navrhujú sérové hladiny KM ako možný marker chorobnej aktivity u SM a ako indikátor upozorňujúci na potrebu terapeutického zásahu pomocou látok vychytávajúcich voľné radikály.

Terapeutický efekt KM bol pozorovaný v pokusoch na zvieracom modeli SM, pri klinickej experimentálnej autoimunitnej encefalitíde (EAE). Ak sa myšiam pred nástupom EAE podávali terapeutické dávky KM, kyselina močová zabránila invázii zápalových buniek do CNS a k vzniku ochorenia. U myši s aktívnou EAE, exogénne aplikovaná KM penetrovala už porušenou BBB do oblasti zápalu v tkanive miechy a znižovala zvýšenú permeabilitu BBB. (4). Terapeutický efekt sa pozoroval aj po podaní prekursoru KM inozínu (16). Tento efekt bol asociovaný so zvýšením hladín KM v tkanive CNS a s inaktiváciou peroxynitritu a zodpovedajúcich látok, ktoré boli produkované monocytmi a prispievali k zvýšeniu permeability BBB a tiež k tkanivovej patológii CNS.

Experimenty na zvieratách viedli k hľadaniu ciest ako zvýšiť sérové hladiny KM u SM pacientov. Po podaní KM sa hladiny KM v sére nezvyšovali v dôsledku degradácie KM gastrointestinálnymi baktériami. K zvýšeniu a udržiavaniu normálnych sérových hladín KM (viac ako rok) sa podarilo u SM pacientoch pomocou prekursoru KM, inozínu. U niektorých pacientov sa pozorovalo zlepšenie klinického stavu, u iných ochorenie neprogredovalo (18). Terapeutická aktivita KM bola asociovaná s inhibíciou peroxynitritom indukovaného tkanivového poškodenia, inhibíciou zmien v permeabilite bariérových systémov mozgu a inhibíciou zápalu CNS (15). Navyše analýza prevalencie SM a hyperurémie dny v súbore viac ako 20 miliónov pacientov ukázala, že u pacientov s hyperurikémiou sa skleróza multiplex nevyskytuje (20).

## ZÁVER

V porovnaní s kontrolným súborom sme u pacientov so sklerózou multiplex (SM) zaznamenali nižšie priemerné plazmatické hladiny kyseliny močovej (KM), pričom štatisticky významný pokles KM sa vyskytoval len u SM pacientov s poruchou hematoencefalickej bariéry. Potvrdili sme, že kyselina močová je markerom dysfunkcie hematoencefalickej bariéry a odráža zmeny jej permeability. Predpokladáme, že existujúci evolučný výrazný koncentračný gradient KM u ľudí je účelovým antioxidantným mechanizmom mozgu. Pri znížení antioxidantnej kapacity mozgu zmenou permeability hematoencefalickej bariéry vstupuje KM do CNS, kde zvyšuje jeho antioxidantnú kapacitu.

Domnievame sa preto, že sérové hladiny KM by bolo vhodné začleniť do biochemických vyšetrení ako skrí-

ningový biomarker pre monitorovanie chorobnej aktivity u SM. Súčasné znalosti o patogenéze SM a o úlohe KM pri tomto ochorení podporujú hypotézu pozitívneho efektu radikálových skavendžerov v terapii SM.

## LITERATÚRA

1. Bolwig, T. G.: Blood-brain barrier studies with special reference to epileptic seizure. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 1988, 345 (78): 15–20.
2. Correale, J., Rabinowicz, A. L., Heck, C. N., Smith, T. D., Loskota, W. J., DeGiorgio, C. M.: Status epilepticus increases CSF levels of neuron-specific enolase and alters the blood-brain barrier. *Neurology* 1998, 50: 1388–1391.
3. Drulovic, J., Dujmovic, I., Stojavljevic, N., Mesaros, S., Andjelkovic, S., Miljkovic, D. et al.: Uric acid levels in sera from patients with multiple sclerosis. *J Neurol* 2001; 248(2): 121–6.
4. Hooper, D. C., Scott, G. S., Zborek, A., Mikheeva, T., Kean, R. B., Koprowski, H., Spitsin, S. V.: Uric acid, a peroxynitrite scavenger, inhibits CNS inflammation, blood-CNS barrier permeability changes, and tissue damage in a mouse model of multiple sclerosis. *FASEB J* 2000; 14(5): 691–8.
5. Kalnovičová, T., Traubner, P., Turčáni, P.: Stanovenie kyseliny močovej v cerebrospinálnom likvore metódou HPLC. *Laboratórna diagnostika* 2004; 2–3: 82–86.
6. Kastenbauer, S., Koedel, U., Becker, B. F., Pfister, H. W.: Oxidative stress in bacterial meningitis in humans. *Neurology* 2002; 58(2): 167–8.
7. Kean, R. B., Spitsin, S. V., Mikheeva, T., Scott, G. S., Hooper, D. G.: The peroxynitrite scavenger uric acid prevents inflammatory cell invasion into central nervous system in experimental allergic encephalomyelitis through maintenance of blood-central nervous system barrier integrity. *J Immunol* 2000; 165: 6511–6518.
8. Koch, M., De Keyser, J.: Uric acid in multiple sclerosis. *Neurol Res* 2006; 28(3): 316–9.
9. Langemann, H., Kabiersch, A., Newcombe, J.: Measurement of low- molecular-weight antioxidants, uric acid, tyrosine and tryptophan in plaques and white matter from patients with multiple sclerosis, *Eur Neurol* 1992, 32; 248–252.
10. Mattle, H. P., Lienert, C., Greeve, I.: Uric acid and multiple sclerosis. *Ther Umsch* 2004; 61(9): 553–5.
11. Mostert, J. P., Ramsaransing, G. S., Heersema, D. J., Heerings, M., Wilczak, N., De Keyser, J.: Serum uric acid levels and leukocyte nitric oxide production in multiple sclerosis patients outside relapses. *J Neurol Sci* 2005; 231(1-2): 41–4.
12. Pecháň, I.: Kyselina močová jako významný antioxidantný metabolit. *Klin Biochem Metab* 1995; 3(24): 207–210.
13. Reiber, H., Felgenhauer, K.: Protein transfer at the blood cerebrospinal fluid barrier and the quantitation of the humoral immune response within the central nervous system. *Clin Chim Acta* 1987; 163: 319–328.
14. Ramsaransing, G. S., Heersema, D. J., De Keyser, J.: Serum uric acid, dehydroeioandrosterone sulphate, and

- apolipoprotein E genotype in benign vs. progressive multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2005;12(7): 514–8.
15. Scott, G. S., Hooper, D. C.: The role of uric acid in protection against peroxynitrite-mediated pathology. *Med Hypotheses*. 2001; 56(1): 95–100.
  16. Scott, G. S., Spitsin, S. V., Kean, R. B., Mikheeva, T., Koprowski, H., Hooper, D. C.: Therapeutic intervention in experimental allergic encephalomyelitis by administration of uric acid precursors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(25): 16303–8.
  17. Sotgiu, S., Pugliatti, M., Sanna, A., Sotgiu, A., Fois, M. L., Arru, G., Rosati, G.: Serum uric acid and multiple sclerosis. *Neurol Sci*. 2002; 23(4): 183–8.
  18. Spitsin, S., Hooper, D. C., Leist, T., Streletz, L. J., Mikheeva, T., Koprowski, H.: Inactivation of peroxynitrite in multiple sclerosis patients after oral administration of inosine may suggest possible approaches to therapy of the disease. *Mult Scler* 2001; 7(5): 313–9.
  19. Squadrito, G. L., Cueto, R., Splenser, A. E., Valavanidis, A., Zhang, H., Uppu, R. M., Pryor, W. A.: Reaction of uric acid with peroxynitrite and implications for the mechanism of neuroprotection by uric acid. *Arch Biochem Biophys* 2000; 376(2): 333–7.
  20. Staub, M.: Uric acid as a scavenger in oxidative stress. *Orv Hetil* 1999; 140(6): 275–9.
  21. Toncevic, G., Milicic, B., Toncevic, S., Samardzic, G.: Serum uric acid levels in multiple sclerosis patients correlate with activity of disease and blood brain barrier dysfunction. *Eur J Neurol* 2002; 9(3): 221–6.

*Adresa pre korešpondenciu:*

Prof. MUDr. Peter Turčáni, PhD.  
1. neurologická klinika LF UK  
Mickiewiczova 13  
813 64 BRATISLAVA  
e-mail: peter.turcani@faneba.sk

---

## SKLERÓZA MULTIPLEX: CYTOSKELETÁLNE MARKERY AXONÁLNEJ DEGENERÁCIE

---

KALNOVIČOVÁ TERÉZIA,  
TRAUBNER PAVEL, TURČÁNI PETER

I. NEUROLOGICKÁ KLINIKA LEKÁRSKEJ  
FAKULTY UNIVERZITY KOMENSKÉHO A FNŠP  
V BRATISLAVE

### SÚHRN

**Patologickým základom progresie ochorenia u sklerózy multiplex (SM) je degenerácia axónov. V predloženej práci diskutujeme o cytoskeletálnych markeroch (neurofilamenty, aktín, tubulín a tau proteíny), ktoré sa u SM pacientov pri poškodení axónov uvoľňujú do cerebrospinálneho likvoru (CSL).**

**Kľúčové slová:** markéry cytoskeletu, neurofilamenty, aktín a tubulín, tau proteíny, skleróza multiplex

### SUMMARY

**The pathologic basis of disease progression in multiple sclerosis (MS) is thought to involve axonal degeneration, which contributes to the accumulation of neurological disability. We describe cytoskeleton markers for axonal damage ( neurofilaments, actin, tubulin and tau proteins) in cerebrospinal fluids (CSF) in people with MS.**

**Key words:** cytoskeleton markers, neurofilaments, actin and tubulin, tau proteins, multiple sclerosis

### ÚVOD

Skleróza multiplex (SM) je ochorenie centrálného nervového systému (CNS) charakterizované zápalom, demyelinizáciou a rozličným stupňom poškodenia axónov. SM sa považuje za autoimunitné ochorenie, v ktorom autoagresívne T lymfocyty atakujú špecifické antigény bielej hmoty, ako je myelín bázický proteín, proteolipidproteín a oligodendrocytový glykoproteín. Imunitná reakcia je agravovaná a moderovaná množstvom pro a proti zápalových cytokínov.

SM sa vyznačuje heterogenitou klinického priebehu, neuroradiologickej prezentácie a odpovedí na terapiu. Priebeh ochorenia môže byť benigný alebo maligný, prebiehať v atakoch (remitentný) s následným nárastom neurologického deficitu (sekundárne chronicko progresívny) a pomaly progredujúci hneď od počiatku ochorenia (primárne chronicko - progresívny). Patologické analýzy 235 aktívnych demyelinizovaných lézií z troch centier poukázali, že v tvorbe lézií sú zahrnuté rozdielne patogénne mechanizmy. Táto heterogenita sa tiež odráža v mechanizmoch, ktoré sú zodpovedné za deštrukciu axónov (12).

Iniciálnym dejom v indukcii mozgového zápalu je migrácia aktivovaných T buniek cez hematoencefalickú bariéru. Aktivované Th1 bunky môžu stimulovať lokálne alebo hematogénne makrofágy, ktoré pôsobia deštruktívne na myelín a vedú k ďalšiemu uvoľňovaniu potenciálnych CNS autoantigénov. Hlavným cieľom deštruktívnych procesov nemusí byť len myelínová pošva. Degenerácii môžu podliehať aj samotné oligodendrocyty (12).

Akútna neurologická dysfunkcia v relapse u SM pacientov sa považuje za dôsledok blokády vedenia vzruchov axonálnou plazmatickou membránou. Toto zlyhanie je čiastočne reverzibilné, pretože dochádza k obnove ich vodivosti redistribúciou iónových kanálov pozdĺž demyelinizovaných axónov. Ireverzibilná disabilita sa objavuje po niekoľkých rokoch a je spojená s perzistentnou axonálnou dysfunkciou a stratou (12). Poškodenie axónov sa pozoruje už pri nástupe ochorenia. Axonálna patológia zostáva však klinicky tichá dlhú dobu. Ku ireverzibilnej neurologickej disabilite dochádza až po prekročení prahovej axonálnej straty a po vyčerpaní kompenzačných zdrojov CNS. Pri závažnej ireverzibilnej neurologickej disabilite dochádza v chronických léziách až k 50 – 80 % strate axónov (4).

Vzhľadom k tomu, že k axonálnemu poškodeniu dochádza už v skorom štádiu SM, stanovenie markerov axonálneho poškodenia v telesných tekutinách môže byť dobrým zdrojom informácií pre voľbu terapeutickú stratégiu. Poškodenie axónov sa môže v telesných tekutinách odrážať zmenami v koncentráciách bielkovín cytoskeletu (neurofilamenty, aktín, tubulín, tau proteíny), markerov membránovej homeostázy (24S-hydrocholesterol, apolipoproteín E) a v iných axonálnych markeroch asociovaných s poškodením axónov (amyloidný prekursorový proteín, kyselina N-acetylasparátová, 14-3-3 proteín, neurón-špecifická enoláza (26)).

V prezentovanej práci sa zaoberáme hodnotením klinického významu stanovenia likvorových hladín niektorých cytoskeletálnych proteínov (neurofilamentov, aktínu, tubulínu a tau proteínov) u pacientov so sklerózou multiplex.

#### CYTOSKELETÁLNE MÁRKERY POŠKODENIA AXÓNOV

Cytoskelet je zložitá sieť bielkovinových vlákien prechádzajúcich cytoplazmou, ktorá umožňuje bunkám zachovávať určitý tvar a uskutočňovať usmernené a koordinované pohyby. Často sa nazýva aj svalovo-kostrovým systémom bunky. Rôzne funkcie cytoskeletu závisia od troch hlavných typov bielkovinových vlákien – aktívnych filamentov, mikrotubulov a intermediárnych filamentov. Vlákna týchto troch typov bielkovín sú vytvorené z rôznych štruktúr v závislosti od toho, s akými doplnkovými bielkovinami sú asociované.

Mikrotubuly sú dlhé duté štruktúry s hrúbkou steny 5 nm a vnútorným priemerom okolo 15 nm. Sú tvorené heterodimérmí alfa- a beta-tubulínu spojených do závitnice. Ich polymerizácia je podporovaná proteínmi asociovanými s mikrotubulmi (MAPs). V mozgu sa nachádzajú dve hlav-

né skupiny MAPs – vysokomolekulárne (MAP-1, MAP-2) a nízkomolekulárne (tau-proteíny).

Mikrofilamenty sú dlhé kompaktné vlákna o priemere 4–7 nm, ktoré obsahujú aktín.

Intermediárne filamenty sú vlákna (priemer 8–14 nm) tvorené polymérmí rôznych proteínov. Skupina, ktorá sa vyskytuje v neurónoch sa nazýva neurofilamenty. Sú tvorené ťažkým, stredným a ľahkým proteínom neurofilamentov, alfa- internexinom a nestínom (7).

Pri poškodení axónov sa cytoskeletálne proteíny dostávajú do extracelulárneho priestoru a sekundárne do cerebrospinálneho likvoru, kde ich zvýšené koncentrácie odrážajú stupeň axonálnej degenerácie, čo možno využiť v predikcii alebo monitorovaní neurologického deficitu alebo efektivity terapeutických intervencií.

#### NEUROFILAMENTY

Neurofilamenty sú dôležité štruktúrne proteíny, ktoré sú tvorené imunochemicky odlišnými polypeptidmi s molekulovou hmotnosťou 68 kDa ( N-L), 150 kDa (N-M) a 190- 210 kDa (N-H). Tieto polypeptidy sa navzájom spájajú prostredníctvom centrálnych domén a vytvárajú heteropolyméry. Neurofilamenty sa syntetizujú a zoskupujú v bunkových telách, odkiaľ sa transportujú do axónov pomalým axonálnym transportom ako polyméry alebo oligoméry (13). V axónoch karboxy- terminálne domény polypeptidov N-F a N-M tvoria laterálne projekcie, ktoré sú schopné interagovať s inými filamentami, a tiež s inými organelami. Tieto bočné ramená sú fosforylované viacerými typmi kináz. Stupeň fosforylácie týchto ramien modifikuje dĺžku a silu priečných väzieb, čím sa ovplyvňuje priemer axónov a tiež rýchlosť axonálneho transportu (13,26)

Vo včasných štádiách experimentálnej alergickej encefalitídy (EAE) (16) a v aktívnych léziách SM (27) sa zistila zvýšená imunoreaktivita nefosforylovaných neurofilamentov.

Existuje niekoľko prác, ktoré demonštrujú zvýšené hladiny ľahkej podjednoty neurofilamentov (N-L) v CSL u pacientoch s relaps-remitujúcou (RR SM) a progresívnou formou SM. V týchto štúdiách sa porovnávali likvorové hladiny N-L pacientov so sklerózou multiplex so zdravými kontrolami a s pacientmi so zápalovým a nezápalovými chorobami CNS ( 4,9,15,19,21,26).

Malmestrom a spol. (15) analyzovali likvorové hladiny N-L u RR SM (n=41, 23 z nich bolo v relapse), SP SM (n=25) a u zdravých kontrol (n=50). Zistili, že pacienti v relapse majú vyššie likvorové hladiny N-L ako RR SM pacienti v remisii, alebo ako pacienti so sekundárne progresívnym priebehom ochorenia (SP SM). Likvorové koncentrácie N-L sa medzi RR SM pacientmi v remisii a SP SM pacientmi významne nelíšili, ale boli vyššie ako v kontrolnom súbore.

Po 3 týždňoch po relapse sa u RR SM pacientov demonštrovali pikové likvorové hodnoty N-L, čo je odrazom poškodenia axónov spôsobeného aktivitou ochorenia (14,15,26).

Likvorové hladiny N-L nezávisia od veku, pohlavia a dĺžky ochorenia (6, 14, 15, 26).

Korelačné analýzy, ktoré boli robené medzi likvorový-

mi hladinami N-L a klinickým neurologickým stavom SM pacientov (hodnotené podľa EDSS) poskytli kontroverzné výsledky. Semra a spol. (21) demonštrovali pozitívnu koreláciu u SP SM, Lycke a spol. (14) u RR SM pacientov a niektorí autori (6, 15,26) nezistili žiadnu koreláciu medzi klinickým neurologickým stavom SM pacientov a likvorovými hladinami N-L. Tieto diskrepancie sa vysvetľujú rozdielnou aktivitou ochorenia študovaných pacientov a následným ovplyvnením stupňa fosforylácie N-L proteínov, ale aj v dôsledku použitia rozdielných ELISA metód (26).

U pacientov s progresívnou formou SM sa v porovnaní s RR SM, zdravými kontrolami a pacientmi s nezápalovými a zápalovými chorobami CNS zistila vyššia frekvencia tvorby intratekálnych autoprotílátok voči N-L (23, 26).

Eikelenboom a spol. (6) zisťovali hodnotu indexu N-L protílátok v CSL u 51 SM pacientoch, z ktorých 21 malo relaps-remitujúcu formu SM, 20 pacientov sekundárne progresívnu a 10 primárne progresívnu formu SM. Index N-L protílátok (pomer protílátok neurofilamentov v CSL/sére delený pomerom albumínu v CSL/sére) pozitívne koreloval s hodnotou atrofie vyjadrenou parenchymálnou a ventrikulárnou frakciou, kým index N-H protílátok pozitívne koreloval len s ventrikulárnou frakciou.

Výsledky výskumu poukazujú, že likvorové koncentrácie N - L sú sľubným markerom na rozlíšenie SM od iných neurologických ochorení a na monitorovanie relapsov. Protílátky voči N-H neurofilamentom sú asociované s progresiou ochorenia SM (26).

#### AKTÍN A TUBULÍN

Druhou hlavnou zložkou axonálneho cytoskeletu sú mikrotubuly. Sú to vlákna cytoskeletu, ktoré sa nachádzajú v axónoch a dendritoch a majú úlohu v axoplazmatickom transporte a v regulácii tvaru. Základnou stavebnou látkou mikrotubúl je bielkovina, ktorá sa nazýva tubulín. Tvoria základnú dimérovú jednotku zloženú z alfa tubulínu a beta-tubulínu, pričom každá molekula alfa a beta - tubulínu obsahuje väzobné miesto pre guanozíntrifosfát (GTP), ktorého štiepením sa uvoľňuje energia. Na alfa - podjednotke je GTP stabilné, na beta- tubulíne sa môže GTP štiepiť za vzniku guanozín difosfátu (GDP). Tubulínové podjednotky sa navzájom spájajú nekovalentnými väzbami do protofilamentov (strieda sa alfa a beta tubulín). Protofilamenty sú štruktúrne polárne, t.j. na jednom konci majú alfa tubulín a na druhom beta tubulín. Vytvárajú stenu dutého cylindrického mikrotubulu, ktorý má tiež špecifickú polaritu. Tubulín sa okrem viazanej formy nachádza v cytoplazme aj vo voľnej forme, kde tvorí zásobu pre tvorbu nových mikrotubulov.

Aktín je globulárny štruktúrny proteín, ktorý polymerizuje a tvorí dlhé vlákna tzv. mikrofilamenty. Mikrofilamenty tvoria súčasť cytoskeletu bunky, priebežne sa tvoria a rozkladajú. Tvorba a rozklad mikrofilamentov je dynamický proces, ktorý je riadený asociovanými proteínmi. Polymerizácia voľného aktínu vyžaduje energiu z hydrolýzy ATP. Mikrofilamenty regulujú pohyb molekúl v povrchovej membráne, zakotvujú membránové štruktúry a tvoria časť cytoskeletu, ktorý slúži na obmedzenie a reguláciu pohybu

organel. Vo väčšine živočíšnych buniek asi polovica molekúl aktínu sa nachádza v nepolymerizovanom stave, v podobe voľných monomérov alebo malých komplexov s inými bielkovinami. Medzi týmito dvomi súbormi, súborom molekúl aktínu a súborom aktínových filamentov existuje dynamická rovnováha, ktorá pomáha uskutočňovať pohyby bunkových povrchov. Aktín má dôležitú úlohu v riadení a v raste axónov, v tvorbe a elongácii neuritov a v rozličných iných biologických funkciách (5).

Cytoskeletálne proteíny boli detegované v cerebrospinálnom likvore u pacientov s neurodegeneratívnymi ochoreniami a ukázalo sa, že tieto proteíny môžu slúžiť ako vhodný markér, ktorý potvrdzuje neurodegeneráciu alebo progresiu ochorenia CNS. Vysoké hladiny aktínu, alebo jeho regulačných proteínov boli detegované v CSL u pacientov s Alzheimerovým ochorením (10,18).

Hladiny aktínu a tubulínu v CSL u pacientov so sklerózou multiplex zisťovali Semra a spol. (21) a Silber a spol. (23). Semra a spol. (21) poukázali na výskyt vyšších likvorových hladín aktínu a tubulínu u pacientov s progresívnou SM (n=19) ako u s RR SM (n=16), a tiež v porovnaní so zápalovým (n=6) a nezápalovým neurologickými chorobami (n=20) a zdravými kontrolami (n=12). Likvorové koncentrácie týchto markerov u pacientov s progresívnou SM korelovali s klinickou disabilitou podľa EDSS. Silber a spol. (23), ktorý stanovovali protílátky voči tubulínu nezistili v hladinách protílátok v sledovanom súbore žiadne významné rozdiely. Skúmaný súbor tvorilo 67 SM pacientov, 12 zdravých kontrol, 40 pacientov s nezápalovými a 21 pacientov so zápalovými chorobami CNS.

Výsledky Semra a spol. (21) sú zaujímavé, ale potrebujú potvrdenie ďalšími štúdiami. Tubulín a hlavne aktín sa ukazujú byť vhodnými markermi na monitorovanie progresie ochorenia. Priemerná koncentrácia aktínu u SM pacientov bola dvojnásobne vyššia ako u kontrol a koncentrácia tubulínu o 50%. Tieto markery sú tiež prítomné aj v iných bunkách CNS a preto ich špecificta pre axonálnu stratu je do určitej miery limitovaná (26).

#### TAU PROTEÍNY

Tau proteíny sú s mikrotubulmi asociované proteíny, ktoré sa nachádzajú v značnom množstve v neurónoch centrálného nervového systému. Podporujú polymerizáciu tubulínu a indukujú tvorbu mikrotubulárnych zväzkov. Tau proteíny (tau) regulujú stabilitu mikrotubulov prostredníctvom svojich izoformií a fosforyláciou. V mozgu existuje 6 izoformií tau, ktoré sa líšia počtom väzobných domén. 3 z týchto izoformií majú tri väzobné domény, ďalšie tri izoformy majú 4 väzobné domény. Väzobné domény sú lokalizované na karboxy- zakončeníach proteínu a sú pozitívne nabité. To umožňuje ich väzbu s negatívne nabitými mikrotubulmi. Izoformy so 4 väzobnými doménami lepšie stabilizujú mikrotubuly ako izoformy s tromi väzobnými doménami. Izoformy tau vznikajú alternatívnym „splicingom“ – zostrihom v exóne 2,3 a 10 tau génu a sú za fyziologických podmienok v rovnováhe (8, 11, 17, 22, 24, 26).

Fosforylácia tau je regulovaná kinázami, napr. s PKN – serín/treonínovou kinázou. Fosforylácia tau proteínu



s PKN spôsobuje disrupciu organizácie mikrotubulov (25). Pri abnormálnej fosforylácii tau proteín nie je schopný sa viazať na mikrotubuly, inkorporuje sa do párových helikálnych filamentov. Znižuje sa množstvo asociovaných mikrotubulárnych makromolekúl tau proteínu, čo vedie k ich destabilizácii, k poruche axonálneho prenosu a k vzniku degeneratívnych ložísk. S týmto javom sa stretávame pri Alzheimerovom ochorení a iných tauopatiách (1, 8).

Tau proteín je vysoko solubilný proteín. Moduluje stabilitu axonálnych mikrotubulov, hlavne v distálnej časti axónov, kde mikrotubuly stabilizuje, alebo tiež v rámci potreby zabezpečuje ich flexibilitu (25).

V súvislosti so štúdiom axonálneho poškodenia sa hladiny tau proteínov študovali aj u pacientov so sklerózou multiplex (SM). Pri analýze cerebrospinálneho likvoru sa zistilo, že pacienti s RR SM majú vyššie likvorové koncentrácie tau ako kontroly tvorené súborom pacientov s nezápalovými neurologickými chorobami (2, 11, 26). V jednej veľkej štúdií, v ktorej sa analyzovali likvorové hladiny tau sa nezistili žiadne významne rozdiely v hladinách tau u SM a u zápalových ochorení CNS. V tejto štúdií (2, 26) sa zvýšené likvorové hladiny tau proteínov (150 %) zistili len u pacientoch s relaps- remitujúcou (RR) SM. Vyšetrený súbor bol tvorený zo 114 SM pacientov (80 RR SM a 34 progresívny typ SM), 79 pacientov so zápalovými a 60 pacientov s nezápalovými neurologickými chorobami. V dvoch malých štúdiách (6, resp. 16 pacientov) sa porovnávali likvorové koncentrácie tau proteínov u pacientov v relapse a v remisii. Zistenia boli konfliktné (17, 24, 26). Monitorovanie klinického neurologického skóre v skupine 32 pacientov v priebehu 3 rokov poukázalo na jeho rýchlejší pokles u pacientov, ktorí mali zvýšené bazálne koncentrácie tau. Likvorové koncentrácie tau proteínu sa pravdepodobne zvyšujú pri akútnom alebo závažnom neuronálnom poškodení. Z 15 študovaných SM pacientov (RRSM a progresívna SM) sa zvýšené likvorové hladiny tau zistili len u jedného pacienta so závažným a neskorým štádiom SM (26).

U pacientov s úrazom hlavy sa hladina tau proteínov v CSL zvýšila až 1000 násobne (26, 28).

Tau proteíny je možné analyzovať aj v sére. V sére sú hladiny tau proteínov 10-krát nižšie ako v CSL. Zvýšené hladiny tau proteínov v sére boli publikované pri mozgovom infarkte (3) a boli znakom slabej prognózy pri poškodení hlavy (22).

Vzhľadom k tomu, že v uvedených prácach sú likvorové hladiny tau vyššie u pacientov s relaps – remitujúcou formou SM ako u nezápalových neurologických kontrol, toto zvýšenie môže odrážať akútne axonálne poškodenie a progresiu ochorenia.

Sú potrebné ešte ďalšie štúdie, ktoré by sa zamerali na zisťovanie korelácií medzi hladinami tau proteínov, aktivitou a progresiou ochorenia u väčších skupín SM pacientov, aj v súvislosti s konverziou relaps- remitujúcej formy na sekundárne progresívnu formu a s MRI štúdiami monitorujúcimi atrofické zmeny.

Tab. 1. Vysvetlivky skratiek

N - L = ľahké reťazce neurofilamentov
N - H = ťažké reťazce neurofilamentov
RR SM - relaps- remitujúca skleróza multiplex
P SM - progresívna skleróza multiplex
PPSM - primárne progresívna
SMSP SM - sekundárne progresívna
SMNIND - nezápalové neurologické ochorenie
IND - zápalové neurologické ochorenie
HC - zdravé kontroly
(-) - negatívna korelácia
(+) - pozitívna korelácia
(x) - žiadna korelácia

Tab. 2. Výsledky z porovnávaní hladín ľahkých (N-L) a ťažkých reťazcov neurofilamentov (N-H) v cerebrospinálnom likvore u pacientov so sklerózou multiplex (SM) (modif. 26). Vysvetlivky tab.1

Porovnanie hladín N-L a N-H u SM pacientov		Korelácie s klinickou disabilitou (EDSS)
N-L	P SM > IND, NIND, HC	/+ / s P SM
	RR SM > IND, NIND, HC	
N-L	SP SM > HC	/X/
	RR SM > HC	
	relaps > remisia	
	SP SM = RR SM	
	RR SM > HC	/+ / s RRSM
N-L	RR SM > HC	
	RR SM = NIND, IND	
	nedeteg. u PP SM, SP SM a RR SM	/X/
antiN-L	PP SM = SP SM = RR SM	
	P SM > RRSM, IND, NIND, HC	/X/
N-H	PP SM = SP SM = RR SM	/X/
antiN-H	PP SM = SP SM = RR SM	/X/

## DISKUSIA A ZÁVER

Demyelinizácia a axonálne poškodenie, ktoré sa vyskytujú v skorom štádiu ochorenia u pacientov so sklerózou multiplex (SM) sú procesy, ktoré prebiehajú odlišnými mechanizmami. Demyelinizácia môže mať reverzibilný charakter, kým o axonálnej regenerácii po transekcii axónov v CNS nie sú dôkazy. Väčšina pacientov so sklerózou multiplex je liečená v smere zabrániť demyelinizácii axónov a indukovať ich remyelinizáciu.

Tab. 3. Výsledky z porovnávania likvorových hladín aktínu a tubulínu u pacientov so sklerózou multiplex (SM) (modif. 26).

Vysvetlivky tab.1

Porovnanie likvorových hladín aktínu a tubulínu u SM pacientov	Korelácie s klinickou disabilitou (EDSS)
P SM > RR SM, IND, NIND, HC RR SM > IND, NIND	/+ / u P SM
Antitubulín a antiaktín SM = IND, NIND, HC	

Table 4. Výsledky z porovnávania likvorových hladín tau proteínov u pacientov so sklerózou multiplex (SM) (modif. 26).

Vysvetlivky tab.1.

Porovnanie likvorových hladín tau proteínov u SM pacientov	Korelácie s klinickou disabilitou (EDSS)
PSM a RRSM > NIND PSM > RRSM /tendencia/ Relaps > remisia Relaps = remisia	/- / s indexom progresie
SM > NIND	
SM = IND	
RR SM > IND	
PSM = RR SM	

Vzhľadom k tomu, že axonálna degenerácia je úzko spojená s neurologickou disabilitou, pre hodnotenie efektu axón-protetivných terapií in vivo by bolo potrebné zaradiť do klinických štúdií aj stanovenie markerov axonálneho poškodenia, ako sú napr. likvorové hladiny cytoskeletálnych proteínov, resp. kvantifikáciu tkanivového N-acetylaspartátu pomocou magnetickej rezonančnej spektroskopie.

Z prezentovaných markerov sú najviac v literatúre študované u SM pacientoch likvorové hladiny N-L proteínu. Výsledky z doteraz publikovaných prác však nie sú dostatočné na posúdenie ich citlivosti a špecificity.

Základnými metodologickými problémami pri štúdiu biomarkerov vo všeobecnosti sú malé skupiny študovaných pacientov a absencia longitudinálneho monitorovania neurologického stavu spolu so sledovaním hladín jednotlivých biomarkerov. Chýbajú práce, ktoré by sa podrobnejšie a komplexnejšie zaoberali porovnaním rozdielov hladín biomarkerov v jednotlivých štádiách ochorenia (relaps, remisia, SP SM, PP SM). Štúdium markerov u SM je komplikované vzhľadom na heterogenitu ochorenia a jeho variabilný priebeh.

Hladiny markerov v telesných tekutinách môžu byť ovplyvnené rôznymi faktormi, ktoré treba pri ich hodnotení brať do úvahy. Napr. rýchlosťou vylučovania do CSL, rozsahom tkanivového poškodenia, vplyvom neuropatológie na intracelulárnu hladinu markera, počas života markera v tkanive, integritou drenážneho systému počas patologických procesov a pod.

Treba uvažovať aj o možnosti vplyvu zmien v extraneuronálnych orgánoch, ktoré môžu ovplyvniť neuropatológiu nepriamo a tým modulovať riziko, alebo prognózu ochorenia. Napr. zvýšené koncentrácie cytokínov alebo protilátok v krvi alebo v CSL následkom zápalových procesov mimo CNS môžu preniknúť do lézie a ovplyvniť axonálnu integritu cez zmenenú permeabilitu hematoencefalickej bariéry. Koncentrácie markerov v krvi a v CSL môžu byť zmenené aj deficitom alebo suplementáciou niektorých látok, ktoré ovplyvňujú integritu axónov, ako je napr. vitamín E. Pre axonálnu integritu má význam aj genetický polymorfizmus, napr. prítomnosť APO epsilon 4 alely, ktorá je rizikovým faktorom viacerých ochorení, vrátane kardiovaskulárnych (26).

Hľadanie markerov, ktoré by definovali axonálnu patológiu pri SM je v začiatkoch a už teraz poskytuje sľubné výsledky.

## LITERATÚRA

- Avila, J., Lucas, J.J., Perez, M., Hernandez, F.: Role of Tau protein in both physiological and pathological conditions. *Physiol Rev* 2004; 84: 361–384.
- Bartosik-Psujek, H., Archelos, J.J.: Tau protein and 14-3-3 are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis and correlate with intrathecal synthesis of IgG. *J Neurol* 2004; 251: 414–420.
- Bitsch, A., Horn, C., Kemmling, Y. a spol.: Serum tau protein level as marker of axonal damage in acute ischemic stroke. *Eur neurol* 2002; 47: 45–51.
- Bjartmar, C., Wujek, J.R., Trapp, B.D.: Axonal loss in the pathology of MS: consequences for understanding the progressive phase of the disease. *J Neurol Sci* 2003; 206(2): 165–71.
- Doussau, F., Augustine, G.J.: The actin cytoskeleton and neurotransmitter release: an overview. *Biochimie* 2000; 82: 353–363.
- Eikelenboom, M.J., Petzold, A., Lazeron, R.H. et al.: Multiple sclerosis: neurofilament light chain antibodies are correlated to cerebral atrophy. *Neurology* 2003; 60: 219–223.
- Fišar, Z., Jiráček, R., editors.: Vybrané kapitoly z biologické psychiatrie, 1 ed. Praha: Grada, 2001: p. 316.
- Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K., Quinlan, M., Tung, Y.C., Zaidi, M.S., Wisniewski, H.M.: Microtubule-associated protein tau. A component of Alzheimer paired helical filaments. *J Biol Chem* 1986; 83: 4913–4917.
- Haghighi, S., Andersen, O., Oden, A., Rosengren, L.: Cerebrospinal fluid markers in MS patients and their healthy siblings. *Acta Neurol Scand* 2004; 109: 97–99.
- Chauhan, V., Ray, I., Chauhan, A., Wisniewski, H.M.: Binding of Gelsolin, a secretory protein, to amyloid beta – protein. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 258: 241–246.
- Kapaki, E., Paraskevas, G.P., Michalopoulou, M., Kili-direas, K.: Increased cerebrospinal fluid tau protein in multiple sclerosis. *Eur neurol* 2000; 43: 228–232.
- Kornek, B., Lassmann, H.: Neuropathology of multiple

- sclerosis – new concepts. *Brain Res Bull* 2003; 61: 321–326.
13. Letournel, F., Bocquet, A., Perrot, R., Dechaume, A., Guinut, F., Eyer, J., Bartheleix, A.: Neurofilament high molecular weight-green fluorescent protein fusion in normally expressed in neurons and transported in axons: A neuronal marker to investigate the biology of neurofilaments. *Neurosci* 2006; 137(1): 103–111.
  14. Lycke, J.N., Karlsson, J.E., Andresen, O., Rosengren, L.E.: Neurofilament protein in cerebrospinal fluid: a potential marker of activity in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 64: 402–404.
  15. Malmestrom, C., Haghighi, S., Rosengren, L., Andersen, O., Lycke, J.: Neurofilament light protein and glial fibrillary acidic protein as biological markers in MS. *Neurology* 2003; 61: 1720–1725.
  16. Mancardi, G., Hart, B., Roccatagliato, L. et al.: Demyelination and axonal damage in non-human primate model of multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2001; 184: 41–49.
  17. Martinez-Yelamos, A., Saiz, A., Bas, J., Hernandez, J.J., Graus, F., Arbizu, T.: Tau protein in cerebrospinal fluid: a possible marker of poor outcome in patients with early relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurosci Lett* 2004; 363: 14–17.
  18. Merched, A., Serot, J.M., Visvikis, S., Aguilon, D., Faure, G., Siest, G.: Apolipoprotein E, transthyretin and actin in the CSF of Alzheimer's patients: relation with the senile plaques and cytoskeleton biochemistry. *FEBS Lett.* 1998; 425: 225–228.
  19. Norgren, N., Rosengren, L., Stigbrand, T.: Elevated neurofilament levels in neurological diseases. *Brain res* 2003; 987: 25–31.
  20. Ondrkalová, M., Kalnovičová, T., Traubner, P., Štofko, J., Turčáni, P.: Cerebrospinálny likvorov a tau proteín ako potenciálny marker Alzheimerovho ochorenia. *Psychiatrie* 2003; 7: 81–82.
  21. Semra, Y.K., Seidi, O.A., Sharief, M.K.: Heightened intrathecal release of axonal cytoskeletal proteins in multiple sclerosis is associated with progressive disease and clinical disability. *J Neuroimmunol* 2002; 122: 132–139.
  22. Shaw, G.J., Jauch, E.C., Temlan, F.P.: Serum cleaved tau protein levels and clinical outcome in adult patients with closed head injury. *Ann Emerg Med* 2002; 39: 254–257.
  23. Silber, E., Semra, Y.K., Gregson, N.A., Sharief, M.K.: Patients with progressive multiple sclerosis have elevated antibodies to neurofilament subunit. *Neurology* 2002; 58: 1372–1381.
  24. Sussmuth, S.D., Reiber, H., Tumani, H.: Tau protein in cerebrospinal fluid (CSF): a blood-CSF barrier related evaluation in patients with various neurological diseases. *Neurosci Lett* 2001; 300: 95–98.
  25. Taniguchi, T., Kawamata, T., Mukai, H., Hasegawa, H., Isagawa, T., Yasuda, M. et al.: Phosphorylation of tau is regulated by PKN. *J Biol Chem* 2001; 276: 10025–31.
  26. Teunissen, C.E., Dijkstra, C., Polman, C.: Biological markers in CSF and blood for axonal degeneration in multiple sclerosis. *Lancet Neurology* 2005; 4(1):32–41.
  27. Trapp, B.D., Peterson, J., Ransohoff, R.M., Rudick, R., Mork, S., Bo, L.: Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 278–285.
  28. Zemlan, F.P., Rosenberg, W.S., Luebke, P.A. et al.: Quantification of axonal damage in traumatic brain injury: affinity purification and characterization of cerebrospinal fluid tau proteins. *J Neurochem* 1999; 72: 741–750.

*Adresa pre korešpodenciu:*

Prof. MUDr. Peter Turčáni, PhD.  
 1. neurologická klinika LF UK  
 Mickiewiczova 13  
 813 64 BRATISLAVA  
 e-mail: peter.turcani@faneba.sk

---

## SPÔSOBILOSŤ MERANIA KRVNÉHO TLAKU

---

PETRÍK JOZEF<sup>1</sup>, PETRÍKOVÁ ELENA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>KATEDRA INTEGROVANÉHO MANAŽÉRSTVA,  
HUTNÍCKA FAKULTA, TECHNICKÁ UNIVERZITA  
KOŠICE

<sup>2</sup>STREDNÁ ZDRAVOTNÍCKA ŠKOLA  
MILOSRDNÉHO SAMARITÁNA, SVIDNÍK

### SÚHRN

Na stanovenie spôsobilosti merania tlaku krvi bola použitá analýza systémov merania (MSA). Ako merací prostriedok bol použitý ortuťový tonometer. Vyhodnocovala sa časová závislosť spôsobilosti. Použila sa metóda analýzy opakovateľnosti a reprodukovateľnosti – GRR s dvoma operátormi, desiatimi meraniami v priebehu dňa a troma opakovaniami, pričom sa stanovila opakovateľnosť (%EV), reprodukovateľnosť (%AV), spôsobilosť (%GRR) a variabilita medzi vzorkami (%PV). Meranie bolo opakované počas desať po sebe nasledujúcich dní. Systém merania bol vyhodnotený ako nespôsobilý – neprijateľný, nakoľko hodnoty %GRR boli 40,3 % až 95,4 %.

**Kľúčové slová:** tlak krvi, ortuťový tonometer, MSA, spôsobilosť, časová závislosť

### ABSTRACT

Measurement system analysis (MSA) was used for estimation of blood pressure measurement system capability. The mercury sphygmomanometer was the gauge. The time dependence of capability was evaluated. The average and range method - GRR with 2 appraisers, 10 measurements per day and 3 trials were used to quantify repeatability (% EV), reproducibility (% AV) capability (%GRR) and part variation (% PV). Measurement was repeated during 10 successive days. As the values of %GRR were between 40.3% and 95.4% the used blood pressure measurement system is not capable.

**Key words:** blood pressure, mercury sphygmomanometer, MSA, capability, time dependence

### ÚVOD

V súvislosti s prirodzeným tlakom na kvalitu výrobkov, služieb a procesov vzrastajú požiadavky na meranie ich kvalitatívnych znakov. Meranie je dôležité pre priemysel vo všetkých fázach výroby: od výskumu, cez vývoj, sledovanie kvality vstupujúcich surovín, polotovarov, vlastného procesu výroby až po výstupnú kontrolu. Možno povedať: „Čo neviete odmerať, to neviete ani vyrobiť“ [1].

Požiadavky na kvalitu existujúcich meraní, ako aj potreba stále nových meracích metód sú aktuálne nielen v priemysle. Zasahujú prakticky všetky oblasti ľudskej činnosti - napríklad ekológiu, rozvíjajúce sa biotechnológie, nanotechnológie, všetky formy diagnostiky v humánnej aj

veterinárnej medicíne, kontrolu potravín, obranné a bezpečnostné zložky. Tento proces je dynamický jav. Rast kvality merania totiž spravidla prináša nové poznatky, ktorých aplikácia vyvoláva tlak na ďalšie zdokonalenie merania.

Na merací proces sa v tejto súvislosti dá pozeráť a tým aj hodnotiť jeho kvalitu, ako na ktorýkoľvek výrobný (ale aj informačný alebo diagnostický) proces, pravda, so zohľadnením jeho špecifik. Merací proces je realizovaný v určitom systéme, zahrňujúcom predovšetkým merací prostriedok, použitú metódu, operátora a podmienky prostredia, ktoré ovplyvňujú jednotlivé prvky procesu. Na kvalitu meracieho procesu má výrazný pozitívny vplyv aplikácia príslušných noriem (napr. ISO 9000, ISO 10 012, ISO 17 025). Operatívne posúdenie kvality meracieho procesu s kvantifikovaným výstupom poskytuje analýza jeho spôsobilosti.

Podľa normy STN EN ISO 10012:2004 je cieľom systému manažérstva merania riadiť riziko, že merací prostriedok a merací proces by mohli dať nesprávne výsledky. Nesprávne výsledky spravidla v konečnom dôsledku negatívne ovplyvnia kvalitu produktov (výrobnej organizácie) s následnými ekonomickými a morálnymi stratami (strata „dobrého mena“ výrobcu), resp. ľudského zdravia (a extrémne života) v prípade diagnostického výkonu, ale aj bezpečnosť, majetok, životné prostredie, záujmy štátu. Aj keď na základe skúseností môžeme predpokladať, že konfirmovaný (teda kalibrovaný a verifikovaný) merací prostriedok bude aj na konci konfirmačného intervalu fungovať správne, je aktuálne nebezpečenstvo jeho nesprávneho použitia. Pri nesprávnom používaní meracieho prostriedku je pravdepodobné nameranie nesprávnych hodnôt aj na najpresnejšom a najsprávnejšom meracom prostriedku. Nesprávne používanie môže byť spôsobené voľbou nesprávnej meracej metódy, nevhodnými podmienkami merania a nevyhovujúcimi operátormi.

Jednou z bežne používaných a pomerne jednoduchých diagnostických metód je neinvazívne meranie tlaku krvi. S rastúcim podielom kardiovaskulárnych ochorení a počtom úmrtí na tieto choroby význam merania a monitorovania tlaku krvi v priebehu 20. storočia narastal a stal sa významným nástrojom terapie a prevencie kardiovaskulárnych ochorení [2].

Meraniu tlaku krvi treba venovať veľkú pozornosť aj preto, že toto zdanlivo jednoduché meranie vyžaduje dôkladné oboznámenie sa s prístrojom, s postupom merania a zabezpečenia jeho pravidelného skúšania, inak sa môžu namerané hodnoty tlaku krvi výrazne odlišovať od skutočných [3].

### ANALÝZA SYSTÉMU MERANIA

Cieľom príspevku je analyzovať príčiny možných nesprávnych výsledkov merania tlaku krvi vyhodnotením spôsobilosti procesu merania. Použitý spôsob vyhodnocovania je založený na analýze systému merania, ktorý bol publikovaný v príručke Analýza systémov merania (MSA – Measurement Systems Analysis). Príručka je doplňujúcim dokumentom k norme ISO QS 9000, ktorá bola do konca roka 2006 nahradená technickou špecifikáciou) STN ISO/TS 16 949:2002. Pri analýze systémov merania ide o posúdenie, či je meranie realizované správne a za vhodných

podmienok. Spôsob je vhodný v prípade, ak sa dá meranie na každej vzorke alebo objekte opakovať. Analýza systému merania je možná na základe určenia opakovateľnosti a reprodukovateľnosti (metódy pre priemer a rozpätie – GRR, v staršej literatúre sa označovala aj ako R&R) alebo využitím analýzy rozptylu (ANOVA). Analýza rozptylu je schopná „vysporiadať sa“ s akýmkoľvek experimentálnym zoradením, umožňuje presnejší odhad rozptylov a získať viac informácií z experimentálnych údajov. Na druhej strane vyžaduje zložitejšie výpočty a určitý stupeň štatistických vedomostí na interpretáciu výsledkov. Vzhľadom na jednoduchší prístup a možnosť použitia výpočtovej techniky bola na vyhodnocovanie spôsobilosti procesu merania tlaku krvi použitá metóda GRR [4].

Ako vyplýva z predchádzajúceho, ide o prienik metódy, používanej v technike do zdravotníctva. Je potrebné prihliadať na špecifiká oboch oblastí s rozdielnym prístupom, tradíciami a objektom záujmu (vzorka – človek). Určitým spojovacím prvkom je meranie v podstate technickej veličiny – tlaku.

#### METÓDA VÝPOČTU SPÔSOBILOSTI

Tlak krvi sa meral na zdravom jedincovi (48 rokov, 79 kg, 183 cm) mesiac po absolvovaní periodickej zdravotnej prehliadky. Meral sa bežne používaným spôsobom [5].

Meranie realizovali dvaja operátori, metóda odporúča dvoch alebo troch operátorov. Operátor A bol „zaškolený laik“, operátor B zdravotník. Meranie sa realizovalo v desiatich po sebe nasledujúcich dňoch (10 etáp), v približne 2-hodinových intervaloch (1. meranie o 5.00, 10. meranie o 22.00) v priebehu jedného dňa. Teda v priebehu jedného dňa bol tlak meraný 10-krát (čo zodpovedá počtu meraných vzoriek v technickom modeli). Poradie operátorov pri meraní sa volilo náhodne (lôsom), operátor vybraný ako prvý zmeral tlak 3-krát (čo zodpovedá počtu opakovaní meraní na jednej vzorke v technickom modeli, metóda odporúča dve alebo tri opakovania), po 5-minútovej prestávke zmeral tlak operátor vybraný ako druhý zasa 3-krát. Pred a po meraní tlaku operátor B zmeral objektu pulz.

Ako merací prostriedok bol použitý ortuťový tonometer (sfygmomanometer) zn. Tonometer 40, vyrobený fy. Chirana Stará Turá v roku 1986, v roku 2006 prešiel servisom a následným overením. Hodnota najmenšieho dielika stupnice je 5 mm Hg. Počas experimentu sa menil lokálny atmosférický tlak v rozmedzí 993 hPa až 1004 hPa, relatívna vlhkosť vzduchu 56 % až 71 % a teplota 28 °C až 31 °C. Rýchlosť poklesu tlaku v manžete bola v rozmedzí 2 až 3 mm Hg.s<sup>-1</sup>, v extrémnych prípadoch (menej skúsený operátor A) maximálne 5 mm Hg.s<sup>-1</sup>.

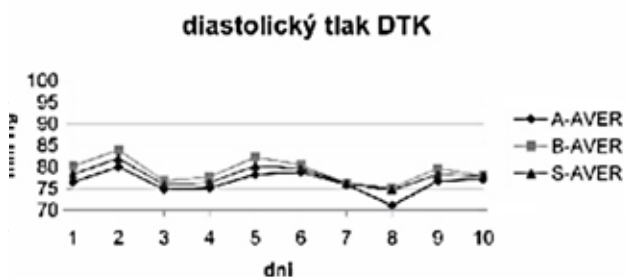
Namerané hodnoty tlaku sa odhadovali s presnosťou na 1 mm Hg. Do úvahy sa brali hodnoty systolického tlaku krvi (STK) a diastolického tlaku krvi (DTK), oba priamo odčítané z tonometra v mimosústavovej (sústavy SI) jednotke tlaku mm Hg.

Chyba merania DSTK bola pri pulze 67 až 76 Korotkovových zvukov („pulzov“) za minútu a rýchlosti klesania tlaku v manžete 5 mm Hg.s<sup>-1</sup> maximálne ± 3,97 mm Hg, na výpočet chyby bol použitý postup uvedený v literatúre [2].



Obr. 1. The average systolic blood pressure

Priebeh nameraného priemerného systolického tlaku krvi pre jednotlivé dni je na obr. 1 – a diastolického na obr. 2. Hodnoty diastolického tlaku boli u operátora B vyššie, u systolického tlaku nebol vplyv operátora výrazný. Rozdiel medzi operátormi neprevyšoval maximálnu chybu merania.



Obr. 2. The average diastolic blood pressure

#### VÝSLEDKY

Prvým krokom analýzy je zistenie, či má použitý merací prostriedok dostatočnú rozlišovaciu schopnosť (teda hodnotu najmenšieho dielika stupnice), ktorá by mala byť aspoň 1/10 z variability sledovaného znaku. Nakoľko variabilita daná smerodajnou odchýlkou (pre jednotlivé dni merania) dosahovala pre systolický tlak krvi hodnoty 4,3 až 7,8 mm Hg a pre diastolický tlak hodnoty 3,8 až 5,6 mm Hg a hodnota najmenšieho dielika stupnice meracieho prostriedku je 5 mm Hg, požiadavka na rozlišovaciu schopnosť nie je splnená. A to ani v prípade, keby merací prostriedok v tomto zmysle zodpovedal požiadavkám uvedeným v bode 2.4.3.2.1.2. vyhlášky 9/2001 Z. z. (hodnota najmenšieho dielika 2 mm Hg).

Očakáva sa štatistická zvládnutosť procesu, teda aby všetky hodnoty variačného rozpätia meraní, realizovaných v priebehu dňa ležali medzi regulačnými hranicami regulačného diagramu rozptylov. Podmienka bola splnená v 45% dní (40% u systolického a 50% u diastolického tlaku). Obaja operátori sa na prekročení regulačných hraníc podieľali rovnako. Ak by bola štatistická nezvládnutosť zistená iba u jedného operátora, je obvykle spôsobená tým, že jeho metóda merania sa líši od metódy používanej ostatnými operátormi [7].

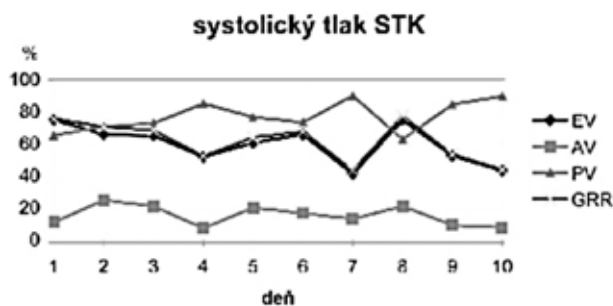
Oblasť vo vnútri regulačných hraníc regulačného diagramu pre priemer predstavuje citlivosť merania. Pretože

skupina meraní v priebehu dňa reprezentuje variabilitu procesu, je žiaduce, aby sa aspoň 50 % priemerov nachádzala mimo regulačné hranice. V tomto prípade je systém merania vhodný na zistenie variability medzi meraniami. V opačnom prípade systému chýba efektívna rozlíšiteľnosť, alebo výber nereprezentuje očakávanú variabilitu procesu [6].

Skutočnosť, že počet údajov mimo regulačných hraníc presiahol iba v troch prípadoch (a to iba v prípade hodnôt diastolického tlaku) 50 %, poukazuje na nízku rozlíšiteľnosť analyzovaného systému merania, čo súvisí so spomínanou nízkou rozlišovacou schopnosťou meracieho prostriedku.

S otázkou rozlišovacej schopnosti meracieho prostriedku súvisí parameter „ndc“ – počet oddelených tried (Wheelerov klasifikačný pomer), udávajúci počet rôznych kategórií, ktoré sa dajú spoľahlivo rozlíšiť systémom merania. Je to počet neprekrývajúcich sa 97 %-ných konfidenčných intervalov, ktoré pokrývajú rozpätie očakávanej variability produktu. Číslo „ndc“ by malo byť rovné aspoň 5 (na hrubé odhady v má byť aspoň 2) [6].

Priemerná hodnota „ndc“ bola u systolického tlaku 1,9 (dosahovala 0,82 až 3,0 v jednotlivých dňoch – etapách) a u diastolického tlaku 2,3 (1,14 až 2,94).

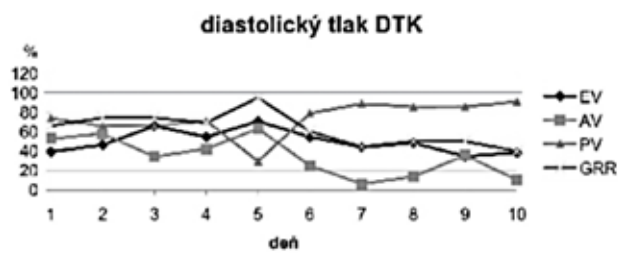


Obr. 3. The values of % EV, % AV, % GRR a % PV indices for systolic blood pressure

Analýza regulačných diagramov pre priemer, rozlíšiteľnosti, ako aj indexu „ndc“ svedčí o nízkej citlivosti použitého meracieho prostriedku vzhľadom k variabilite sledovaného znaku.

Zmeny jednotlivých indexov s časom sú znázornené na obr. 3 pre systolický tlak a na obr. 4 pre diastolický tlak.

Index %EV predstavuje kumulovaný vplyv meracieho prostriedku, použitej metódy a podmienok merania na variabilitu. Je funkciou priemerného variačného rozpätia opakovaných meraní pre všetkých operátorov. Priemerná hodnota %EV bola u systolického tlaku 60 % a u diastolického tlaku 50 %. Hodnoty indexu vykazujú s časom značnú variabilitu, ktorá u iných meraní, napr. tvrdosti nebola pozorovaná [8; 9]. Vzhľadom na použitie normovanej metódy a platný konfirmačný interval meracieho prostriedku by mala mať vplyv na jeho úroveň nízka rozlíšiteľnosť meracieho prostriedku, citlivosť na vonkajšie podmienky merania, ako aj možné metodické chyby operátora A, vyplývajúce z jeho neskúsenosti (napr. nerovnomerná rýchlosť poklesu tlaku v manžete).



7Obr. 4. The values of % EV, % AV, % GRR a % PV indices for diastolic blood pressure

Index % AV vyjadruje vplyv operátora na variabilitu, napr. jeho prístup alebo schopnosti. Je funkciou variačného rozpätia aritmetických priemerov meraní vykonaných jednotlivými operátormi. Priemerná hodnota % AV bola u systolického tlaku 15 % a u diastolického tlaku 35 %. Pokles hodnôt indexu % AV s časom, výraznejší pri diastolickom tlaku, je pravdepodobne dôsledkom zvyšovania schopnosti operátora A (opakovaním získava zručnosť). Vyššie hodnoty indexu u diastolického tlaku sú dôsledkom možného väčšieho subjektívneho vplyvu operátora pri odčítaní (menej výrazné Korotkovove zvuky ako pri systolickom tlaku).

Index % GRR predstavuje podiel vplyvu meracieho prostriedku na variabilite. Jeho hodnota prakticky vyjadruje spôsobilosť procesu. S rastom hodnoty indexu % GRR spôsobilosť systému merania klesá. Pokiaľ jeho hodnota nepresahuje 10 %, systém merania sa považuje za prijateľný, v rozsahu 10–30 % za podmienene prijateľný.

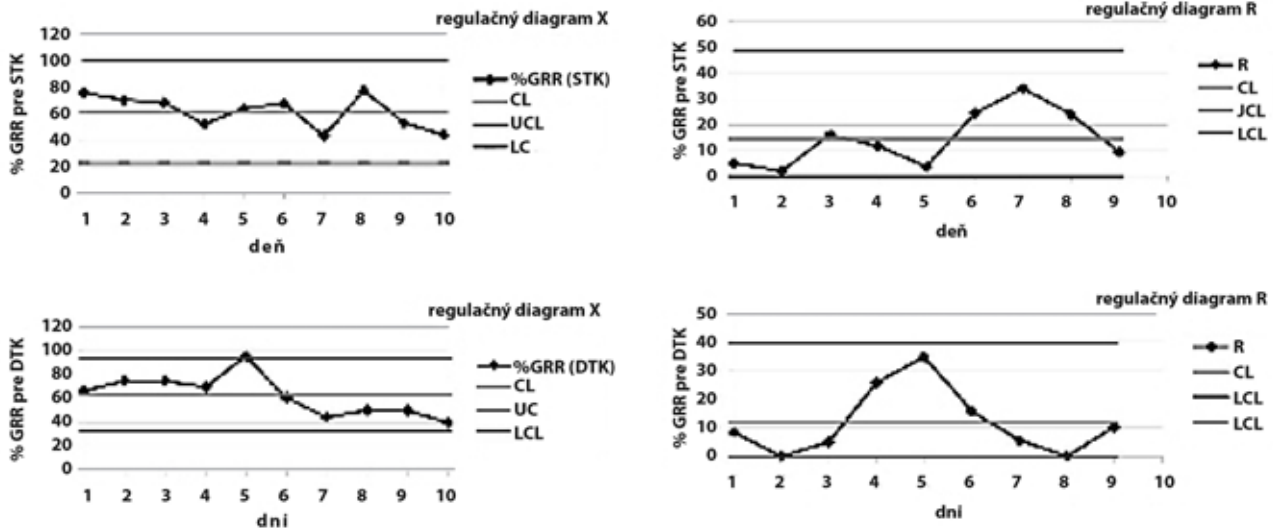
Analýzovaný proces merania je neprijateľný – nespôsobilý, nakoľko hodnoty indexu % GRR prekračujú vo všetkých prípadoch 30 %. Pri systolickom tlaku krvi je to v priemere 62 % a u diastolického tlaku 63 %. S časom dochádza k miernemu poklesu hodnoty indexu, teda k zvyšovaniu spôsobilosti.

Index % PV je funkciou variačného rozpätia aritmetických priemerov všetkých meraní v priebehu jedného dňa (jednej etapy). Je citlivý na vplyv variability medzi meraniami vzorkami, teda na kolísanie tlaku krvi objektu v priebehu dňa. Jeho hodnota nepriamo charakterizuje vhodnosť meracieho prostriedku na dané meranie. Veľmi presné meracie prostriedky majú hodnotu % PV nad 99 %, vhodne zvolené nad 90 %, prijateľné nad 70 % a nepresné nad 50 %. Nižšie hodnoty vykazujú nevhodné meracie prostriedky [10].

Priemerná hodnota % PV bola u systolického tlaku 77 % a u diastolického tlaku 74 %. Z uvedených hodnôt vyplýva, že použitý merací prostriedok je vzhľadom na medzivzorcovú variabilitu prijateľný.

## DISKUSIA

Ako vyplýva z hodnôt indexov % GRR, analyzovaný proces merania tlaku krvi sa javí ako neprijateľný – nespôsobilý, prípadne, podľa indexu „n dc“ použiteľný na hrubé odhady. Hodnota indexu 62 % až 63 % je nižšia (a teda proces „spôsobilejší“ ako v prípade niektorých technických meraní. Napríklad hodnota indexu % GRR pri vyhodnocovaní spôso-



Obr. 5. The control charts for %GRR, index systolic and diastolic blood pressure

bilosti procesu merania tvrdosti Vickersovou metódou bola 66,4% [11], Brinellovou metódou 70% až 90% v závislosti od druhu meraného materiálu [9; 12]. Spôsobilosť procesu merania mikrotvrdosti je tiež nízka, index % GRR dosahoval hodnoty v rozmedzí 61% až 86% [13].

Určitý obraz o štatistickej zvládnutosti experimentu môže poskytnúť analýza regulačných diagramov hodnôt indexu % GRR. Vzhľadom na skutočnosť, že v priebehu dňa sa stanovila iba jedna hodnota indexu boli sme nútení použiť regulačný diagram individuálnych meraní [14]. Kontrolná procedúra v tomto prípade používa na odhad variability v procese kľzavé rozpätie dvoch bezprostredne nasledujúcich pozorovaní.

Ako vyplýva z obr. 5, index % GRR je v prípade systolického tlaku štatisticky zvládnutý, hodnoty ležia v regulačnom diagrame priemerov (X) aj rozpätí (R) medzi regulačnými hranicami, v prípade diastolického tlaku nie je. Táto skutočnosť korešponduje s vyššie spomínanými ťažkosťami pri meraní diastolického tlaku.

## ZÁVER

1. Analyzovaný systém a v ňom realizovaný proces merania tlaku krvi ortuťovým tonometrom sa javí ako neprijateľný – nespôsobilý.
2. Príčinou je nedostatočná rozlišovacia schopnosť meracieho prostriedku, možná zvýšená citlivosť na vonkajšie podmienky a metodické chyby, vyplývajúce z neskúsenosti operátora A.
3. Vplyv operátorov na nespôsobilosť opakovaním mierne klesá.

## LITERATÚRA

1. Smieško, V., Kukuča, P.: Úloha merania pri reštrukturalizácii hospodárstva. *Metrologia a skúšobníctvo*, 2005; 39; 26.
2. Skákala, J.: Meranie tlaku krvi. *Metrologia a skúšobníctvo* 2004; 3; 7–15.

3. Škrovánek, T.: Neinvazívne mechanické prístroje na meranie tlaku krvi. *Metrologia a skúšobníctvo* 2004; 3; 16–21.
4. <http://jakost.cz/metodiky/download/srovnani-msavda.pdf> (21.11.2005).
5. Krišková, A. et al.: *Ošetrovateľské techniky*. 1. vydanie. Martin: Osveta, 2001: 321–325
6. *Analyza systémů měření (MSA)*. 3. vydanie, Praha: Česká společnost pro jakost, 2003: 102–120.
7. Plura, J.: *Plánování a neustálé zlepšování jakosti*. 1. vydanie. Praha: Computer Press, 2001: 143–155.
8. Petřík, J., Špeřuch, V.: The Dependence of Hardness Measurement System Capability on the Time. *Transactions of the Universities of Košice* 2005; 3; 27–33.
9. Petřík, J., Špeřuch, V.: Časová závislosť spôsobilosti merania tvrdosti. *Transfer* 2005; 429–432.
10. Meloun, M., Militký, J.: *Kompendium statistického zpracování dat*. 1. vydanie. Praha: Academia, 2002: s. 29.
11. Petřík, J., Szarvasy, P., Špeřuch, V.: Hodnotenie merania tvrdosti silumínu s obsahom niklu. *Transfer* 2004; 401–406.
12. Petřík, J., Szarvasy, P., Špeřuch, V.: Kvalita procesu merania tvrdosti odliatku zo silumínu. *Hutnické listy* 2005; 1–4; 12–15.
13. Petřík, J., Palfy, P.: Kvalita procesu merania mikrotvrdosti. *Metrologie* 2006; 2; 1–5.
14. Terek, M., Hrnčiarová, L.: *Analýza spôsobilosti procesu*. 1. vydanie. Bratislava: Ekonóm, 2001, s. 55.

## Adresa autorov:

Ing. Jozef Petřík, PhD.,

Katedra integrovaného manažérstva, Hutnícka fakulta, Technická univerzita Košice, Letná 9, 04200, Košice Slovensko, tel.: 055/6022872, e-mail: jozef.petrik@tuke.sk

Mgr. Elena Petříková, Stredná zdravotnícka škola milosrdného Samaritána, Sov. Hrdinov 80, 08901 Svidník

**PREZENTÁCIE A SÚHRNY  
ZO SYMPÓZIA LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKY  
A LABKVALITY 07  
SIELNICA, 10.–12. SEPTEMBRA 2007**



# INTEGRATION OF DATA DERIVED FROM BIOLOGICAL VARIATION INTO THE QUALITY MANAGEMENT SYSTEM

RICÓS CARMEN AGUILA

LABORATORIS CLÍNICS HOSPITAL VALL D'HEBRON, BARCELONA, SPAIN

## Quality management system deals with

The sources of variability related to laboratory processes

Clue processes

- Pre-analytic
- Analytic
- Post-analytic



## BV & Pre-analytic process

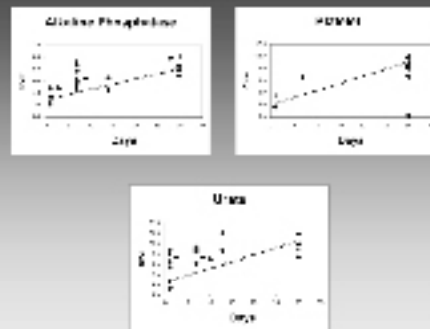
### ✓ Sampling interval (1)

34 Analytes with more than 6 articles compiled in our database

- Data organized in ascending order according to time sampling interval
- Distribution of CV, observed for tendencies



## Within-subject BV increases with sampling interval

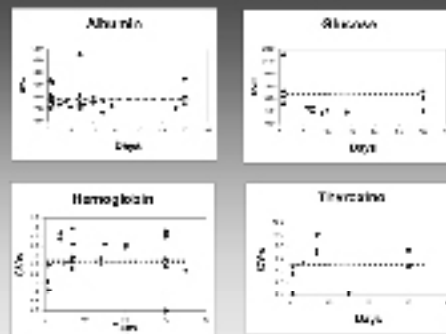


## BV & Pre-analytic process

- ✓ Type of sample
- ✓ Sampling interval
- ✓ Sample stability



## Sampling interval does not affect within-subject BV



## BV & Pre-analytic process

### Type of sample

Analyte	CV <sub>t</sub> %	
	Serum	Urine
α-Amylase	9.5	94.0
Albumin	3.1	36.0
Calcium	1.8	26.2
Creatinine	4.3	11.0

α-Amylase: concentration, random  
 Albumin: concentration, first morning  
 Calcium: output, 24 hours  
 Creatinine: output, 24 hours

RICÓS CARMEN AGUILA, 2017



## ✓ Sampling interval. Conclusions

- ✓ Most analytes ⇒ short or long time intervals
- ✓ ALP, platelet, urate ⇒ short time intervals








**Conclusions (1)**


**BV is an open road for gaining information that will**

- Assure sample quality
- Improve the analytical process
- Autoverify laboratory reports
- Provide a clinical prognosis regarding patient status



**Conclusions (2)**

**Some of these applications are preliminary (e.g. sampling interval and sample stability), but give an indication of where to focus future studies**



## ANALYTICAL GOALS (ANALYTICAL QUALITY SPECIFICATIONS)

- A. BASED ON CLINICAL SITUATIONS
- B. BASED ON COMMON REFERENCE INTERVALS

PETERSEN PER HYLTOFT

NORWEGIAN QUALITY IMPROVEMENT  
OF PRIMARY CARE LABORATORIES, DIVISION FOR  
GENERAL PRACTICE, UNIVERSITY  
OF BERGEN  
BERGEN, NORWAY

**Quality Specifications**

1983 David Tanks  
 $2CV = [1/4 \text{ reference range}/\text{mean}] \times 100\%$

1968 Roy Barnett  
"Medically significant CV" - said to be opinions of clinicians and laboratory specialists

1970 Coffaro, Harris and Williams  
Biological variation  
- tolerable analytic variability  $CV < 1/2 CV_{\text{within-subject}}$

1977 CAP Asper Conference  
Screening:  $CV < 1/2 [CV_{\text{within}}^2 + CV_{\text{between}}^2]^{1/2}$   
Diagnosis and monitoring:  $CV < 1/2 CV_{\text{within-subject}}$

Analyt. Prozess      Quality Goals, Slide 48/180

**Quality Specifications**

1980s Nordic projects on influence of analytical quality on medical decisions

1990s NORDKEM project  
"Medical need for quality specifications in clinical laboratories"

EGE-Lab Working Group  
Biological variation and state of the art

European EQA Organisers Working Group  
Biological variation based, also in EQA and for reference methods]

ISO TC 212/WG3      ISO 15196  
"Analytical Performance Goals Based on Medical Needs"

Analyt. Prozess      Quality Goals, Slide 3/87

**The hierarchy of strategies  
to set quality specifications**

- 1 Assessment of the effect of analytical performance clinical decision-making in specific situations.
- 2 Assessment of the effect of analytical performance on general clinical decision-making approaches.
- 3 Professional recommendations.
- 4 Quality specifications laid down by PHE/QAS organisations.
- 5 Published data on the state of the art.

Analyt. Prozess      Quality Goals, Slide 3/87

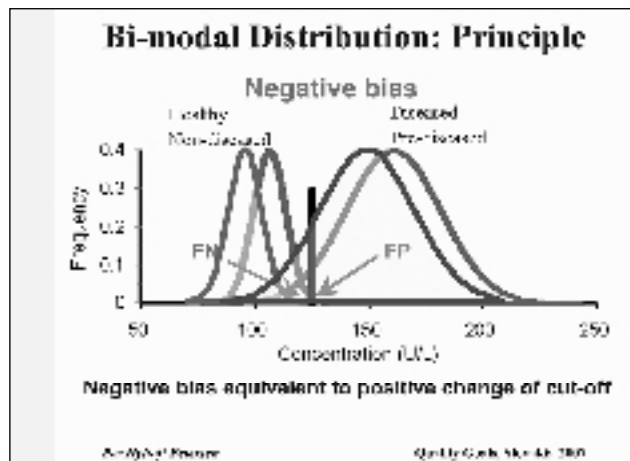
The Singapore Journal of  
**Intelligent Laboratory  
 Investigation**

**CONSENSUS STATEMENT**

The main outcome of the Delphi process is a consensus that the following elements of model should be applied to analytical quality evaluation:

1. Evaluation of the effect of analytical performance on CLM is necessary to optimize clinical settings
2. Risk view of the effect of analytical performance on CLM is of interest
3. Data based on comparison of clinical variables
4. Data based on analysis of laboratory results

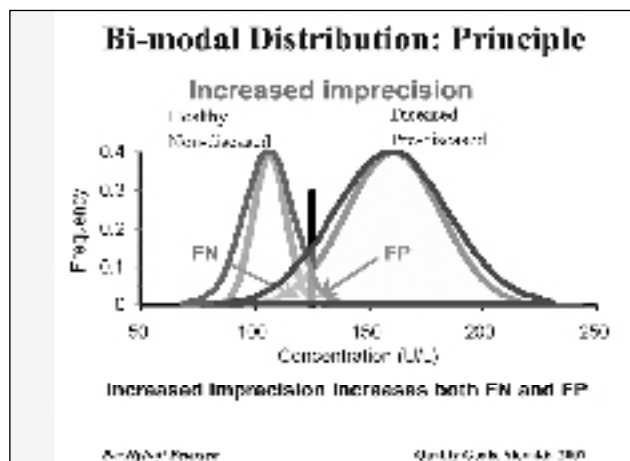
Quality Ind. Simul. 2007



## 1. Clinical approaches

Assessment of the effect of analytical performance clinical decision-making in specific situations

Quality Ind. Simul. 2007

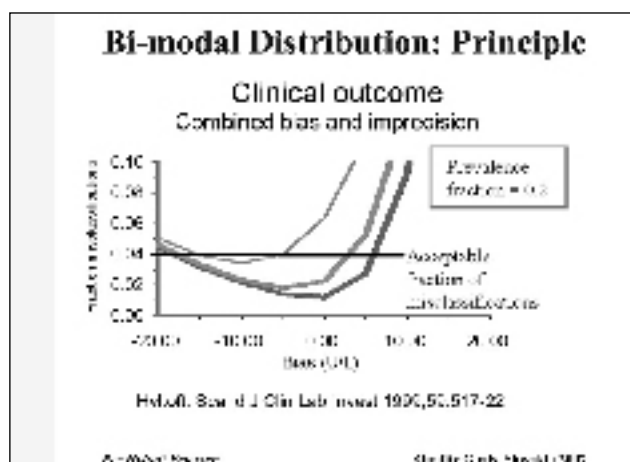
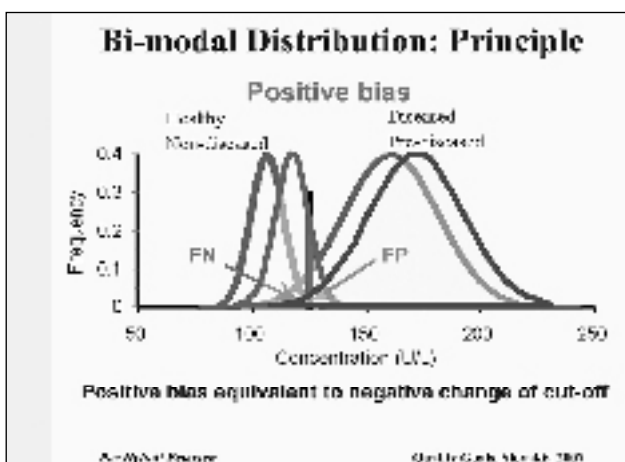
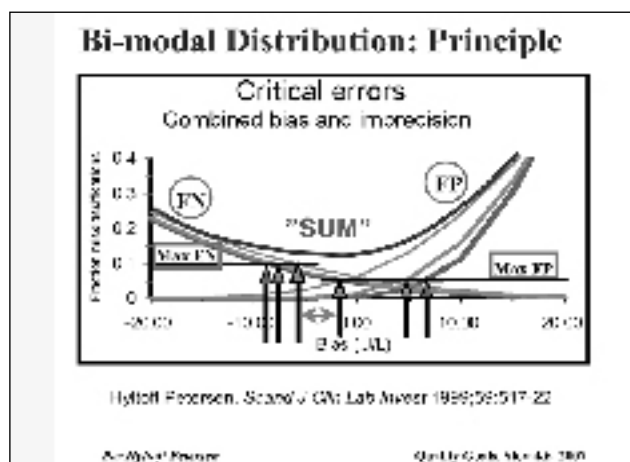


### Clinical decisions

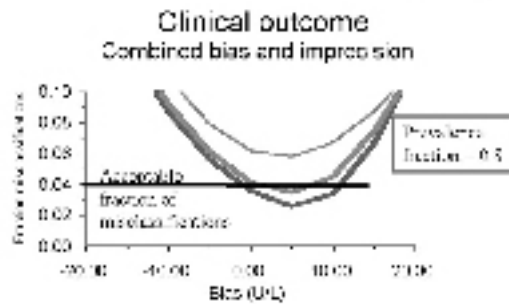
**Bimodal**

**Unimodal**

Quality Ind. Simul. 2007



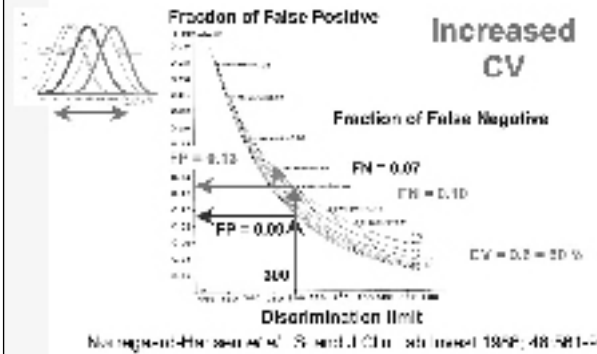
### Bi-modal Distribution: Principle



A - Mycol Science

Quality Check, Slide 1/10/17

### Bi-modal Distribution: AMI and Myoglobin



Nonnegative-Herstein et al. J. Clin. Lab. Invest. 1999; 48:581-9

A - Mycol Science

Quality Check, Slide 1/10/17

### Bi-modal Distribution: Principle

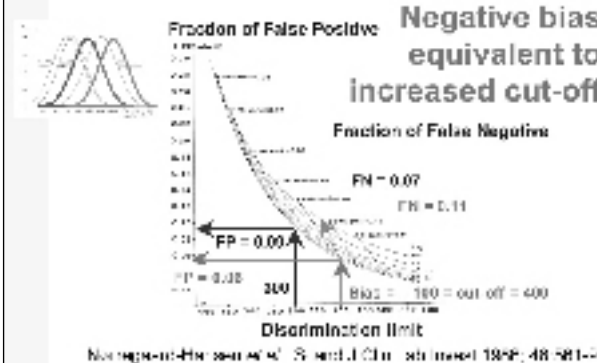
Analytical quality specifications depend on:

- distributions of the two groups
- the decision point
- the prevalence
- the weighting of FP and FN

A - Mycol Science

Quality Check, Slide 1/10/17

### Bi-modal Distribution: AMI and Myoglobin



Nonnegative-Herstein et al. J. Clin. Lab. Invest. 1999; 48:581-9

A - Mycol Science

Quality Check, Slide 1/10/17

### Bi-modal: Diagnosis

Example:

Serum- Myoglobin (AMI)

- Bi-modal distribution
- Discrimination limit
- FP and FN
- Effect of analytical quality

A - Mycol Science

Quality Check, Slide 1/10/17

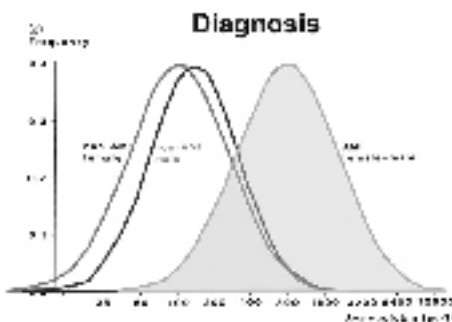
### Bi-modal: Screening

Example:

Blood – TSH (newborns)

- Bi-modal distribution
- Discrimination limit
- Cost
- Effect of analytical quality

### Bi-modal Distribution: AMI and Myoglobin



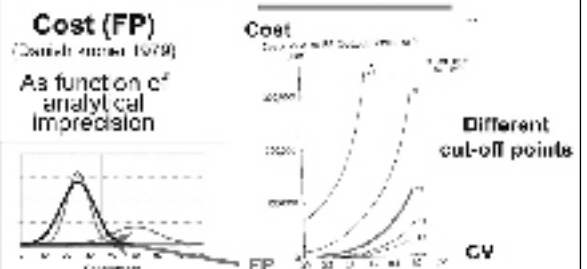
Nonnegative-Herstein et al. J. Clin. Lab. Invest. 1999; 48:581-9

A - Mycol Science

Quality Check, Slide 1/10/17

### Bi-modal Distribution: TSH-screening

TSH-screening of newborns for congenital hypothyroidism (a filter paper used 1.7)

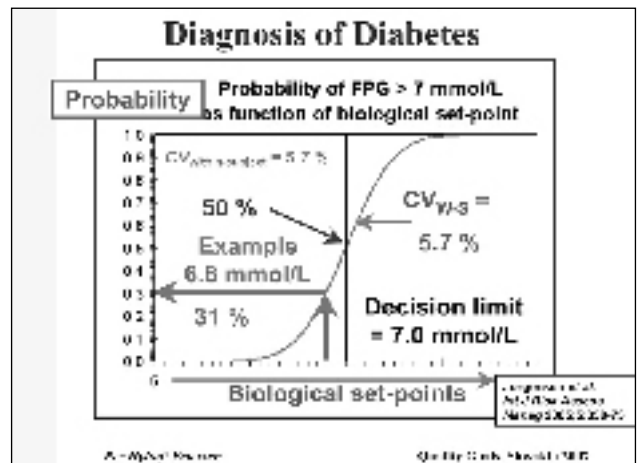
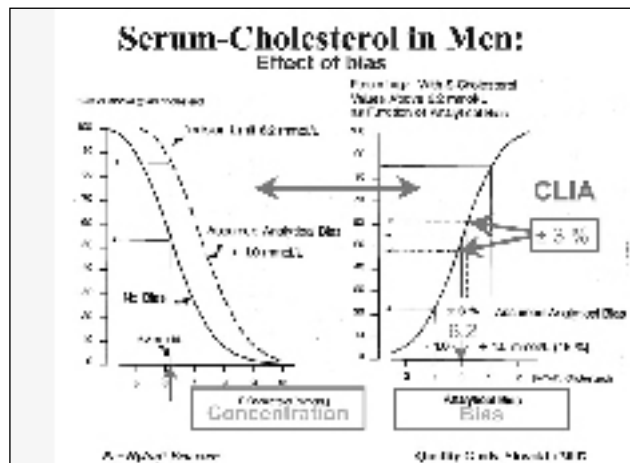


Hyllfjell-Petersen et al. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1990; 40:suppl 1:55-58-83

A - Mycol Science

Quality Check, Slide 1/10/17





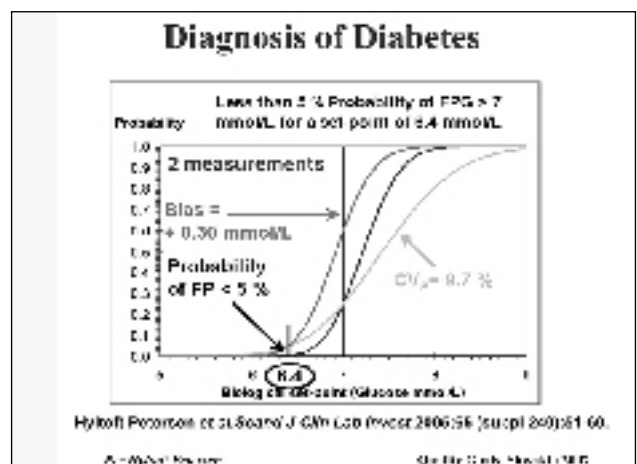
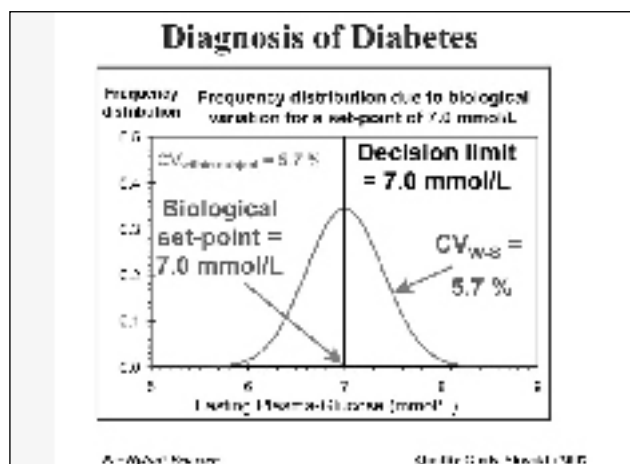
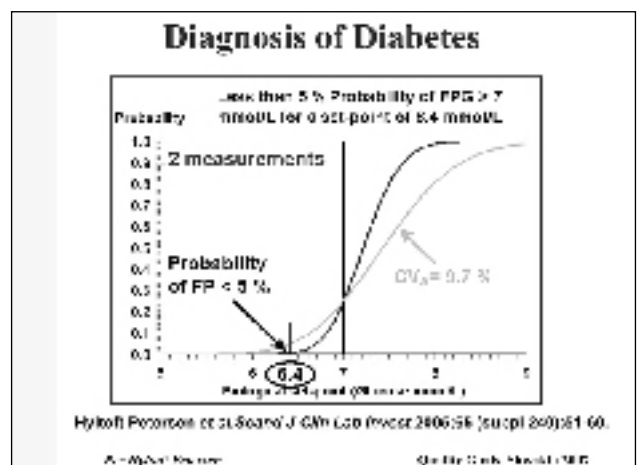
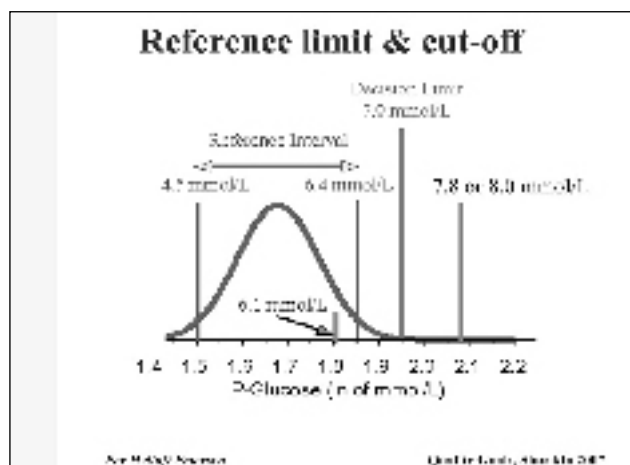
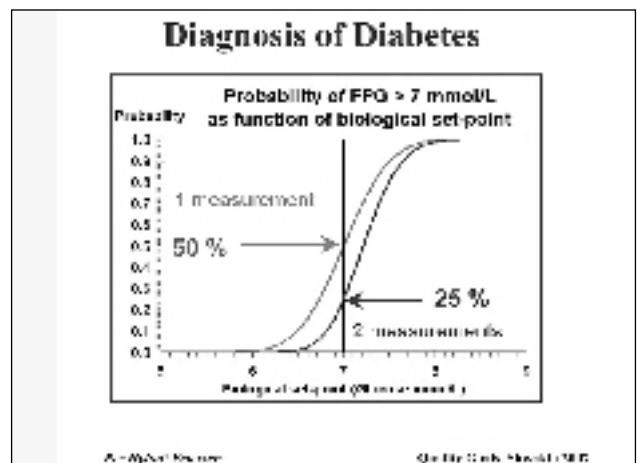
### Uni-modal: Decision limit

Example:

#### Plasma-Glucose

- Uni-modal distribution
- Biological set-point
- Personal risk
- Effect of analytical quality

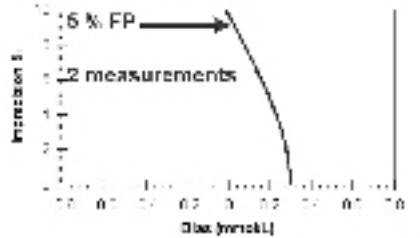
A - Applied Science      Q - Quality Check - Standard 1/07





## Diagnosis of Diabetes

Diagnosis of Diabetes and Analytical Errors  
Composition of Allowable Bias and Imprecision  
Probability of a FP = 5% for Set-Point  
6.4 mmol/L



Hyllfjord Perceval et al. Scand J Clin Lab Invest 2006;66 (suppl 240):61-60.

A - Westgard Science

Quality Goals, Standards & Metrics

## Advantage and disadvantages of clinical approach

Advantage:

Directly related to clinical use

Disadvantages:

New specifications for each situation

Difficult to obtain data

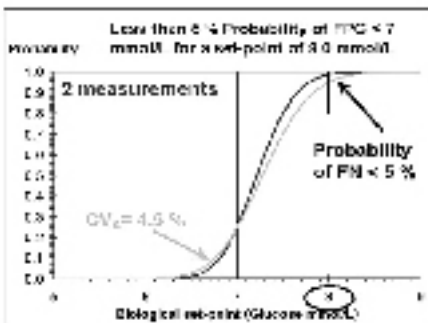
New assumptions and complicated models

Same component has different uses and thereby several specifications

A - Westgard Science

Quality Goals, Standards & Metrics

## Diagnosis of Diabetes



Hyllfjord Perceval et al. Scand J Clin Lab Invest 2006;66 (suppl 240):61-60.

A - Westgard Science

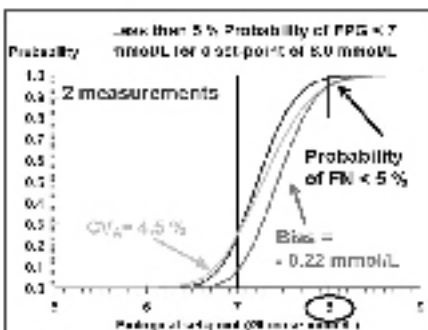
Quality Goals, Standards & Metrics

## 2. General approaches

Assessment of the effect of analytical performance on general clinical decision-making

### 2A. Biological variation data

## Diagnosis of Diabetes



Hyllfjord Perceval et al. Scand J Clin Lab Invest 2006;66 (suppl 240):61-60.

A - Westgard Science

Quality Goals, Standards & Metrics

## Easy to obtain data on biological variation and quality specifications

Data on biological variation and quality specifications -

up to date compilation by Larsen, Riise and colleagues found at

[www.westgard.com/guest26.htm](http://www.westgard.com/guest26.htm)

What's new in analytical chemistry

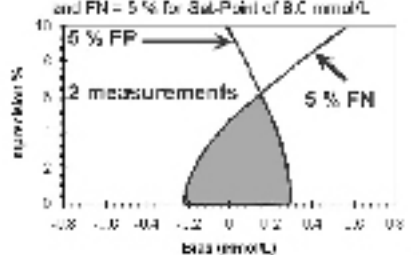


A - Westgard Science

Quality Goals, Standards & Metrics

## Diagnosis of Diabetes

Diagnosis of Diabetes and Analytical Errors  
Composition of Allowable Bias and Imprecision  
Probability of a FP = 5% for Set-Point 6.4  
and FN = 5% for Set-Point of 6.0 mmol/L



Hyllfjord Perceval et al. Scand J Clin Lab Invest 2006;66 (suppl 240):61-60.

A - Westgard Science

Quality Goals, Standards & Metrics

## Nature of Biological Variation

<http://www.westgard.com/guest26.htm>

2006-06-06 10:00:00 AM

2006-06-06 10:00:00 AM

2006-06-06 10:00:00 AM

2006-06-06 10:00:00 AM

2006-06-06 10:00:00 AM

2006-06-06 10:00:00 AM

2006-06-06 10:00:00 AM

2006-06-06 10:00:00 AM

2006-06-06 10:00:00 AM

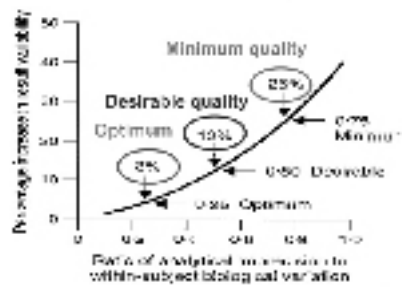
2006-06-06 10:00:00 AM

2006-06-06 10:00:00 AM

A - Westgard Science

Quality Goals, Standards & Metrics

### The effect of imprecision on test result variability



Turney et al. Ann Clin Biochem 1997;34:11-12

Academy of Science

Quality Tools, Slide 287

### From Sample Size Confidence Intervals to Analytical Quality Specifications

The 95% confidence interval for each reference limit is  $0.25 * \frac{CV_{\text{analytical}} * CV_{\text{within-subject}}}{\sqrt{N}}$  for  $CV_{\text{analytical}} < 0.5$

If  $N$  increases to sample size to  $N > 2000$  the CI is negligible

With the common reference interval for each population without errors, we can allow for bias and imprecision instead of sample size

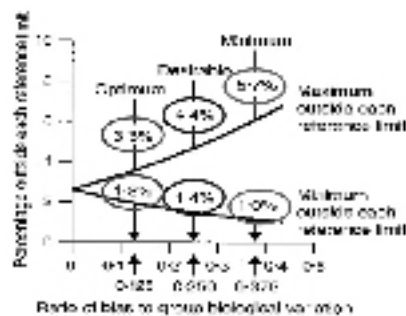
Thus the common reference interval is as good for all, as if each lab had produced it according to IFCC

Turney et al. Statist J Clin Lab Invest 1995;75:48-54

Academy of Science

Quality Tools, Slide 288

### Effect of bias on reference values



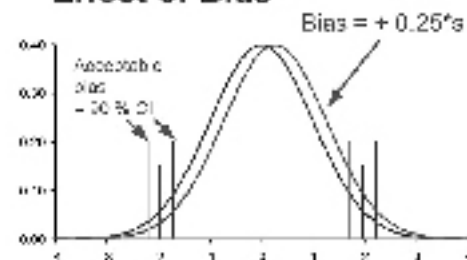
Turney et al. Ann Clin Biochem 1997;34:11-12

Academy of Science

Quality Tools, Slide 287

### Confidence Intervals and Acceptable Bias

#### Effect of Bias



Academy of Science

Quality Tools, Slide 288

### Quality Specifications for Bias

The Concept of Sharing Common Reference Intervals for Homogeneous Populations Within a Geographical Area

Academy of Science

Quality Tools, Slide 288

### Quality Specifications for Bias

Specifications for Bias:

Gowans et al. (1988)

$$| \text{Bias} | < 0.25 * CV_{\text{Population}}$$

Turney et al. Statist J Clin Lab Invest 1995;75:48-54

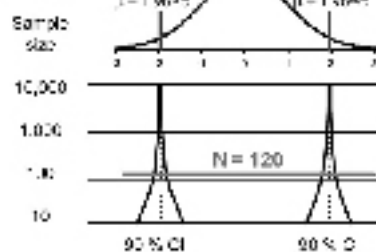
Academy of Science

Quality Tools, Slide 288

### Sample Size and Confidence Intervals

IFCC recommendation:

$N \geq 120$



Academy of Science

Quality Tools, Slide 288

### EGE-Lab Recommendations

EGE-Lab Criteria:

Cotlove et al. (1970):

$$CV_{\text{Analytical}} < 0.5 * CV_{\text{Within-Subject}}$$

Gowans et al. (1988):

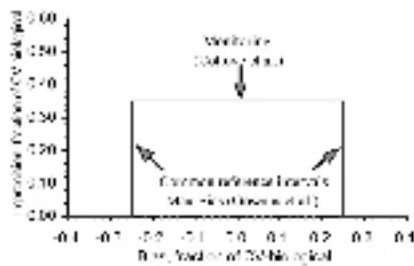
$$| \text{Bias} | < 0.25 * CV_{\text{Population}}$$

Academy of Science

Quality Tools, Slide 288

## Combined errors

### Combined bias and imprecision The EGE-Lab model



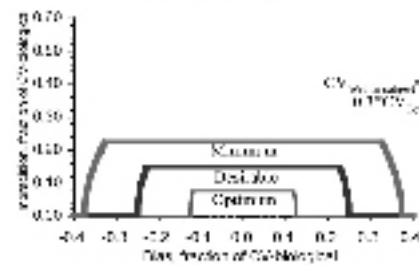
Hydell Nielsen et al. Ann Lab Med 2010;15(1-2):3

A - Wjwst Science

Quality Tools, Models, ME

## Combined errors

### Combined bias and imprecision The three level model



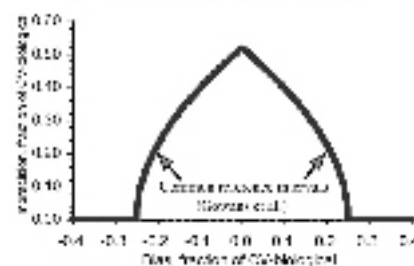
Hydell Nielsen et al. Ann Lab Med 2010;15(1-2):3

A - Wjwst Science

Quality Tools, Models, ME

## Combined errors

### Combined bias and imprecision Model for common reference intervals



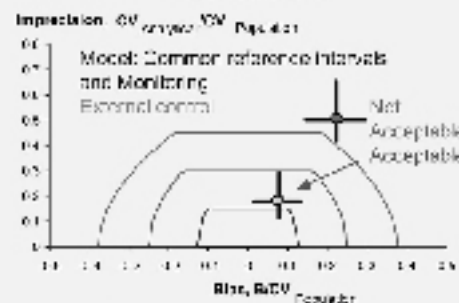
Hydell Nielsen et al. Ann Lab Med 2010;15(1-2):3

A - Wjwst Science

Quality Tools, Models, ME

## Analytical Quality Specifications In External control

### Combined errors



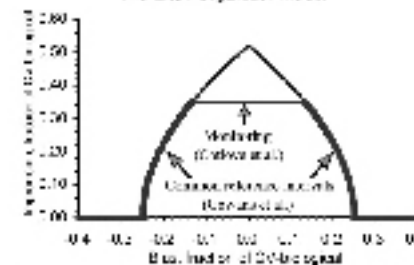
Hydell Nielsen et al. Ann Lab Med 2010;15(1-2):3

A - Wjwst Science

Quality Tools, Models, ME

## Combined errors

### Combined bias and imprecision The LGA-Organser model



Hydell Nielsen et al. Ann Lab Med 2010;15(1-2):3

A - Wjwst Science

Quality Tools, Models, ME

## Advantage and disadvantages of biological approach

### Advantage:

- Many data on biological variation
- Generally applicable (same assumptions)
- Easy to grasp and apply

### Disadvantages:

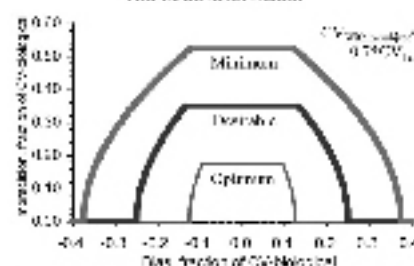
- Not related to specific clinical uses
- Sometimes too narrow/wide

A - Wjwst Science

Quality Tools, Models, ME

## Combined errors

### Combined bias and imprecision The three level model



Hydell Nielsen et al. Ann Lab Med 2010;15(1-2):3

A - Wjwst Science

Quality Tools, Models, ME

## 2. General approaches

Assessment of the effect of analytical performance on general clinical decision-making

### 2B Clinical vignettes

A - Wjwst Science

Quality Tools, Models, ME

## 2B - Views of users A typical vignette

A 63 year old man with high blood pressure is found to have a serum cholesterol concentration of 5.6 mmol/L. He is advised about lifestyle modification including diet. You review him after 2 months.

What serum cholesterol concentration would indicate to you that he has taken your advice?

Please insert serum cholesterol concentration ..... mmol/L. **Sverre Sandberg**

Sandberg & Thus. *Scand J Clin Lab Invest* 1979;50:531-4

© M&S Science

Quality Tools, Module 2B7



© M&S Science

Quality Tools, Module 2B7

## Quality specifications from clinical vignette studies

- collate responses and calculate differences
- calculate median of differences
- decide on the probability of the semantics and find appropriate Z-score
- find the within-subject biological variation [CV]
- calculate the imprecision required since:  
difference =  $Z \cdot Z' \cdot [CV_A^2 + CV^2]^{1/2}$

Sandberg & Thus. *Scand J Clin Lab Invest* 1979;50:531-4

© M&S Science

Quality Tools, Module 2B7



© M&S Science

Quality Tools, Module 2B7

## Advantage and disadvantages of clinical vignette studies

Advantage:

- Directly related to clinical use
- Easy to grasp

Disadvantages:

- New specifications for each situation
- Difficult to obtain data
- Usually based on 5 % significance

© M&S Science

Quality Tools, Module 2B7



© M&S Science

Quality Tools, Module 2B7

The International Journal of  
*Clinical Laboratory Investigation*

**CONSENSUS DOCUMENT**

The data sources of the Conference are reviewed and the following features of such studies should be applied to all clinical quality investigations:

1. Definition of the clinical end point indicator or clinical outcome or specific clinical stages
2. Evaluation of the effect of analytical performance on the clinical decision or point of care
  - a. Data level or components of the result variables
  - b. Data point or number of clinical decisions

Korpi et al. *SIJCL* 1996; 29: 655

© M&S Science

Quality Tools, Module 2B7

# ANALYTICKÁ KVALITA A EXTERNÁ KONTROLA

PETERSEN PER HYLTOFT

NORWEGIAN QUALITY IMPROVEMENT  
OF PRIMARY CARE LABORATORIES, DIVISION FOR  
GENERAL PRACTICE, UNIVERSITY  
OF BERGEN, BERGEN, NORWAY

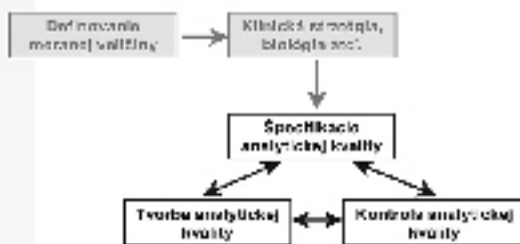
## Návaznosť

Štandardizačná metóda  
Referenčné metódy

Certifikované referenčné  
materiály  
Medzinárodné referenčné  
prípravky

Per Hansen, Peteresen, Analytical Quality and External Control, Skanska 2007

## Prvky analytickej kvality



Per Hansen, Peteresen, Analytical Quality and External Control, Skanska 2007

## Dôležitosť štandardizácie proteínov

Projekt IFCC

Certifikovaný referenčný  
materiál CRM 470

Special report

ERM-DA 470, 471, 472, 473, 474

New International Reference Preparation for Proteins in Human Serum (IFCC-ERM-DA 470):  
Alicja Wiktor, Robert F. Brückner, A. Mervin Johnson, S. Vignesh Prasad, J. Joseph Khoury, Gene  
M. Robinson, Andria Calkins, in concert with the IUPAC/WHO World Health Organization

ERM Európske referenčné materiály

IRMM: ERM-DA 470

Per Hansen, Peteresen, Analytical Quality and External Control, Skanska 2007

## Definovanie meranej veličiny

Hemoglobín A<sub>1c</sub> (HbA<sub>1c</sub>)

(DCCT)

The Diabetes Control and Complication Trial Research Group

Definícia IFCC:

Bežná zložená hemoglobín (α<sub>2</sub>β<sub>2</sub>) —  
beta-reťazec N-glykosylovaný hemoglobín; proteínová časť

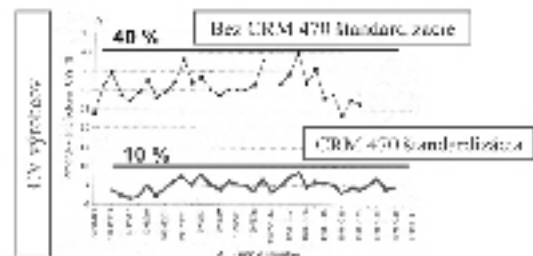
Ľudský choriový gonádotropín (hCG)

v gravidite (α<sub>1</sub>-komplexná molekula)  
ako tumorový marker (α<sub>2</sub>-komplex)

Per Hansen, Peteresen, Analytical Quality and External Control, Skanska 2007

## Haptoglobín: štúdia CAP

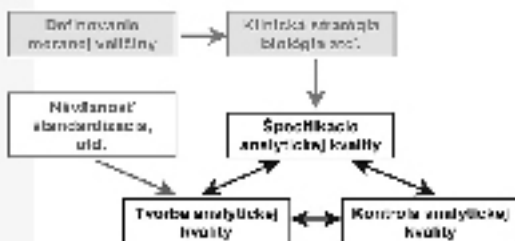
Efekt CRM 470



J. Hansen et al. Arch Intern Med 2002; 162:1495-1501.

Per Hansen, Peteresen, Analytical Quality and External Control, Skanska 2007

## Prvky analytickej kvality

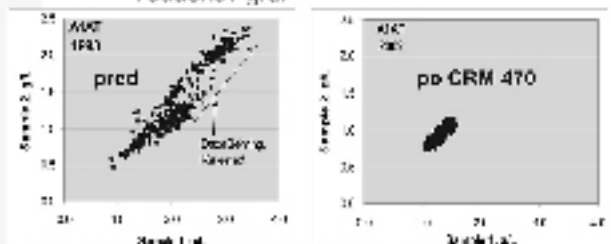


Per Hansen, Peteresen, Analytical Quality and External Control, Skanska 2007

## α<sub>1</sub>-antitrypsin: projekt IFCC

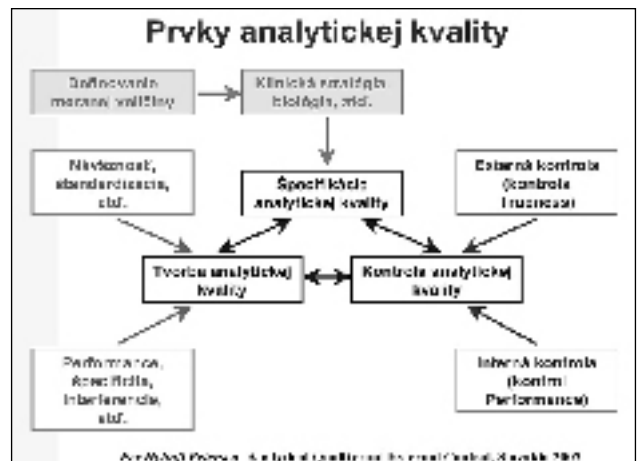
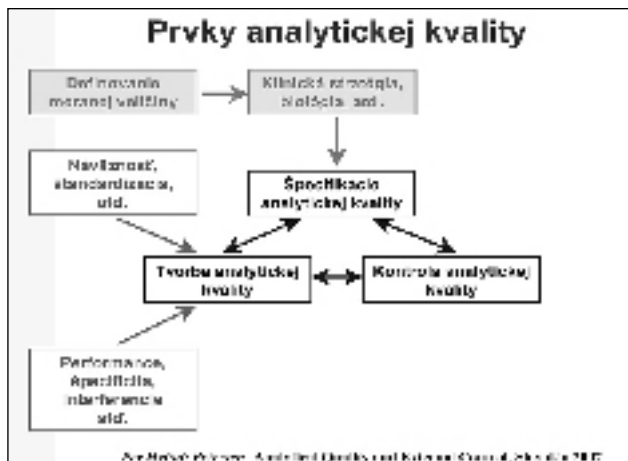
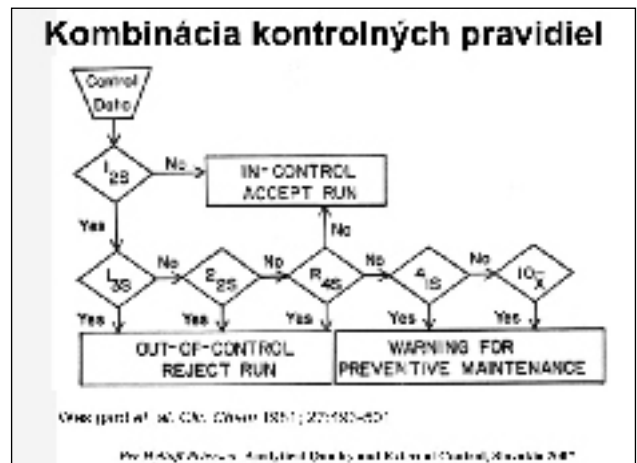
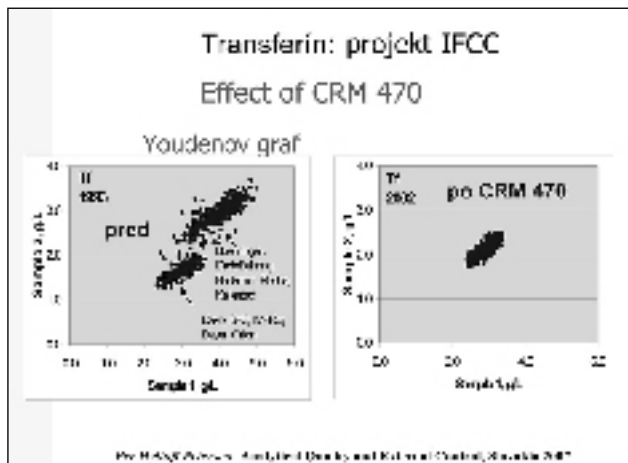
Efekt CRM 470

Youdenov graf



J. Hansen et al. Arch Intern Med 2002; 162:1495-1501.

Per Hansen, Peteresen, Analytical Quality and External Control, Skanska 2007



### Špecificita

Sérový kreatinín:  
Metódy Jaffe  
Enzymové metódy

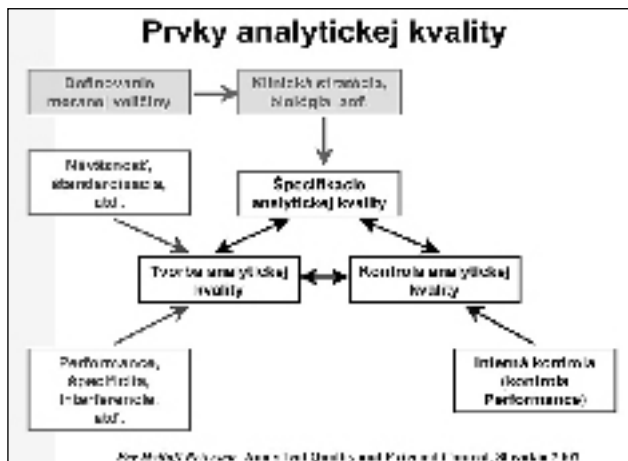
### Interferencie a matrix

Koagulačné metódy INR:  
Owren: merania FII, FVII a FX  
Quick: merania FII, FVII a FX + FV a FI

Pr. MANSZ Pálosy, Analytical Quality and Patient Care, Slovakia 2007

1	2	3	4	5	6
1	2	3	4	5	6
1	2	3	4	5	6
2	3	4	5	6	7
3	4	5	6	7	8
4	5	6	7	8	9
5	6	7	8	9	10

Pr. MANSZ Pálosy, Analytical Quality and Patient Care, Slovakia 2007



### Kvalita analytiky

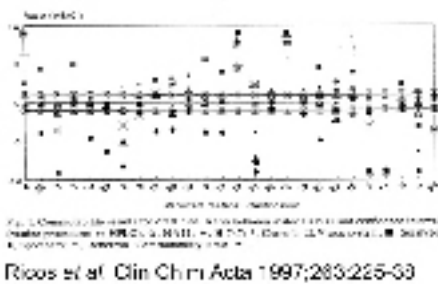
#### Záruka kvality:

- Externé hodnotenie kvality
  - návaznosť
  - kontrolné materiály
- Klinické využitie
- Špecifikácie analytickej kvality
- Spoločné referenčné intervaly

Pr. MANSZ Pálosy, Analytical Quality and Patient Care, Slovakia 2007

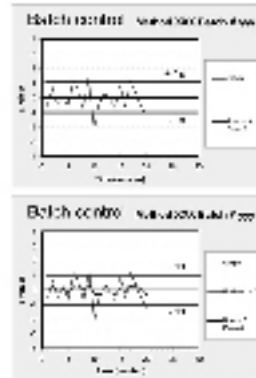
## Externé hodnotenie kvality Commutability kontrolných materiálov

Kreatinin  
(pomerný)



Pre HASP, Avenca, Amalind, Deaky, and Kilmal, Control, Slovakia 2007

## Kontrola šarže



V grato su aktuálne výsledky ako funkcia času podľa rovnakých kontrolných pravidiel ako pre internú kontrolu

**Bez chyby**

Použitím kumulatívnych pravidiel môže byť pomer signál-šum zlepšený

Pre HASP, Avenca, Amalind, Deaky, and Kilmal, Control, Slovakia 2007

## Externé hodnotenie kvality

### Hodnotenie metódy

Návaznosť, špecifická metódy

### Hodnotenie šarže

Stabilita výroby

### Hodnotenie účastníkov

Performance individuálneho laboratória

Pre HASP, Avenca, Amalind, Deaky, and Kilmal, Control, Slovakia 2007

## Kontrola šarže

EWMA: Exponenciálny vážený plávajúci priemer

Všeobecný vzorec pre EWMA:  $z_i = \lambda x_i + (1-\lambda)z_{i-1}$ ,  $\lambda$  má časte hodnotu 0,3

$$z_1 = 0.3 \cdot x_1 + (0.7) \cdot 0$$

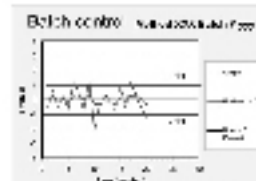
$$z_1 = 0.3 \cdot 10 + (0.7) \cdot 0 = 3$$

$$z_2 = 0.3 \cdot x_2 + (0.7) \cdot z_1$$

$$z_2 = 0.3 \cdot 20 + (0.7) \cdot 3 = 8.1$$

$$z_3 = 0.3 \cdot x_3 + (0.7) \cdot z_2$$

$$z_3 = 0.3 \cdot (-10) + (0.7) \cdot 8.1 = 2.7$$



Pre HASP, Avenca, Amalind, Deaky, and Kilmal, Control, Slovakia 2007

## Hodnotenie metódy

### Línia návaznosti a kontroly

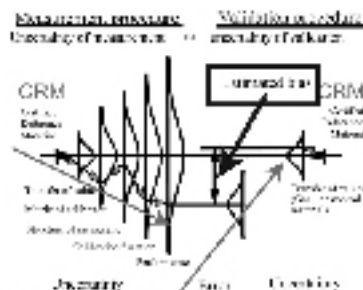
Rastúca neistota v líni návaznosti

Je potrebných iba niekoľko laboratórií

Kontrola s minimálnou neistotou

Lyltek, Peltzer et al. Clin Chem Lab Med 2001; 39:559-65

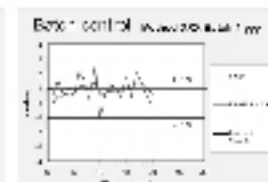
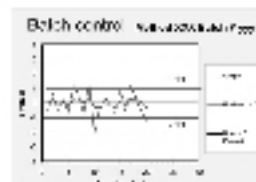
Pre HASP, Avenca, Amalind, Deaky, and Kilmal, Control, Slovakia 2007



## Kontrola šarže

### Bez zmeny

### Zmena ~ +1s



Pre HASP, Avenca, Amalind, Deaky, and Kilmal, Control, Slovakia 2007

## Kontrola šarže

Kontrola šarže sa môže robiť na národnej báze organizátorom EQA využitím spoločného originálneho kontrolného materiálu

Prí uvedení novej šarže sa prvých 5 výsledkov zasiela organizátorovi EQA

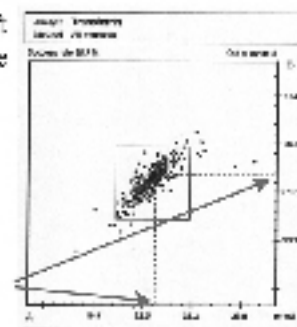
Pre HASP, Avenca, Amalind, Deaky, and Kilmal, Control, Slovakia 2007

## Externé hodnotenie kvality

Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie

### Youdenov graf

Vaše výsledky dvoch kontrol



Pre HASP, Avenca, Amalind, Deaky, and Kilmal, Control, Slovakia 2007





## Referenčné sérum X

NORIP

<http://www.funco.no/norip/X/nor.htm>

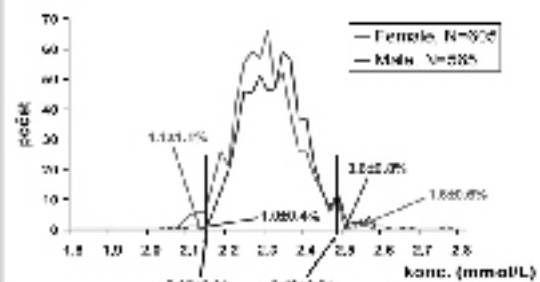
Tu je zobrazená tabuľka s popisom referenčného séra X, ktoré sa používa v rámci projektu NORIP.

Referenčné sérum	Referenčné sérum X	Referenčné sérum Y	Referenčné sérum Z	Referenčné sérum W
Referenčné sérum X	Referenčné sérum X	Referenčné sérum Y	Referenčné sérum Z	Referenčné sérum W
Referenčné sérum Y	Referenčné sérum X	Referenčné sérum Y	Referenčné sérum Z	Referenčné sérum W
Referenčné sérum Z	Referenčné sérum X	Referenčné sérum Y	Referenčné sérum Z	Referenčné sérum W
Referenčné sérum W	Referenčné sérum X	Referenčné sérum Y	Referenčné sérum Z	Referenčné sérum W

Pre NORIP: <http://www.funco.no/norip/X/nor.htm>

## Projekt NORIP

### Ca, čerstvá plazma

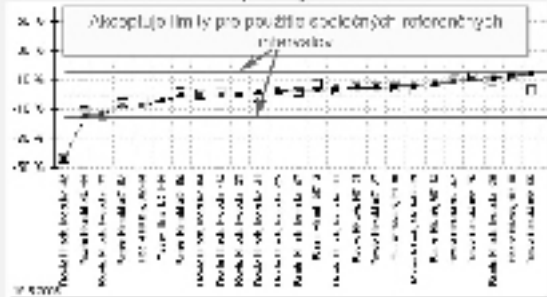


Pre NORIP: <http://www.funco.no/norip/X/nor.htm>

## Referenčné sérum X

### Bilirubín

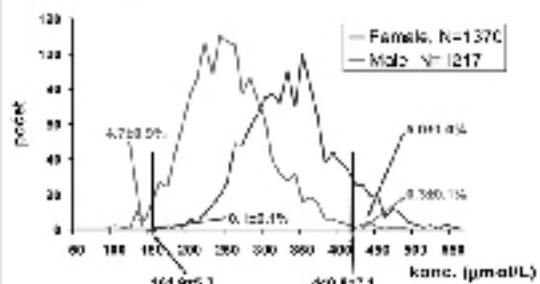
Analyzátory Roche: Hitachi-Modular



Pre NORIP: <http://www.funco.no/norip/X/nor.htm>

## Projekt NORIP

### Kyselina močová, zmrazené sérum

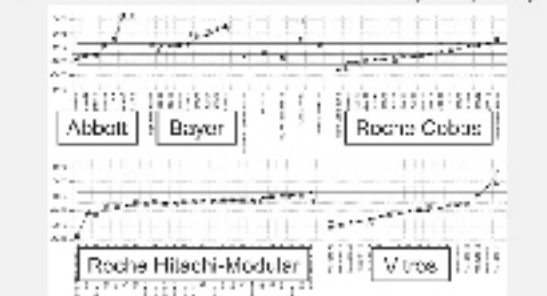


Pre NORIP: <http://www.funco.no/norip/X/nor.htm>

## Referenčné sérum X

### Bilirubín

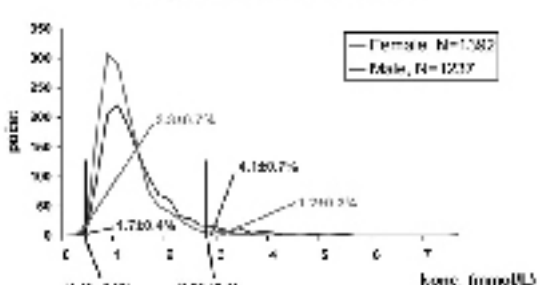
Všetky analyzátory



Pre NORIP: <http://www.funco.no/norip/X/nor.htm>

## Projekt NORIP

### Triglyceridy, zmrazené sérum



Pre NORIP: <http://www.funco.no/norip/X/nor.htm>

## Referenčné sérum X

### Glukóza

Všetky analyzátory



Pre NORIP: <http://www.funco.no/norip/X/nor.htm>

## Projekt NORIP

Met.	Jedn.	N	h	Referenčné limity					
				2.5 percentil			97.5 percentil		
				Ref.	cihly	homg.	Ref.	cihly	homg.
serum	mmol/L	Z	1232	0.43	0.41	0.45	2.38	2.19	2.53
		M	1237	0.40	0.42	0.50	2.22	2.28	2.45
		2-M	2228	0.45	0.44	0.47	2.25	2.13	2.50
plazma	mmol/L	Z	250	0.40	0.38	0.42	2.12	1.98	2.30
		M	284	0.40	0.41	0.51	2.14	2.38	2.44
		2-M	1283	0.42	0.41	0.49	2.28	2.35	2.60
smaz.	mmol/L	Z	227	0.45	0.42	0.47	2.23	2.19	2.45
(p=12 h)		M	544	0.47	0.44	0.50	2.25	2.33	2.50
hod.:		2-M	1174	0.46	0.44	0.48	2.23	2.31	2.49
smaz.	mmol/L	Z	358	0.41	0.37	0.45	2.18	1.93	2.20
(p=12 h)		M	373	0.48	0.43	0.51	2.25	2.47	2.55
hod.:		2-M	781	0.42	0.41	0.48	2.25	2.15	2.48

Pre NORIP: <http://www.funco.no/norip/X/nor.htm>

## Projekt NORIP

Pr. MANSZ Pócsa, Á. Lőrincz Deák, and K. Balogh Csabai, Szekes 2007

## Externé hodnotenie kvality

### Hodnotenie metódy

Návaznosť, špecifická metóda

### Hodnotenie šarže

Stabilita výroby

### Hodnotenie účastníkov

Performance individuálneho laboratória

Pr. MANSZ Pócsa, Á. Lőrincz Deák, and K. Balogh Csabai, Szekes 2007

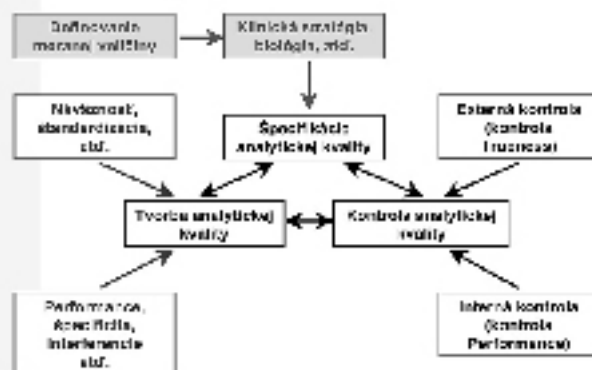
## Projekt NORIP

Normatívum						AJI					
Paraméter	Uo	Uo	Uo	Uo	Uo	Uo	Uo	Uo	Uo	Uo	Uo
Ureaz	20	40,6	7,6	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Ureaz	20	40,6	7,6	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Ca	100	2,07	1,88	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

	Pohl.	Vsh	Výpočítané					
			n	stred	rozptyl	SE		
Ureaz	oba	1674	16,5	47,8	1014	74,6	47,7	457
Ureaz	oba	4089	28,5	49,4	1248	26,8	48,4	689
Ureaz	oba	2410	14,4	45,4	470	24,4	45,4	214
Ca	oba	5	2,07	2,24	2569	2,15	2,43	1214

Pr. MANSZ Pócsa, Á. Lőrincz Deák, and K. Balogh Csabai, Szekes 2007

## Prvky analytickej kvality



Pr. MANSZ Pócsa, Á. Lőrincz Deák, and K. Balogh Csabai, Szekes 2007

## Kvalita analytiky

### Záruka kvality:

Externé hodnotenie kvality

- návaznosť
- kontrolné materiály

Klinické využitie

Špecifikácie analytickej kvality

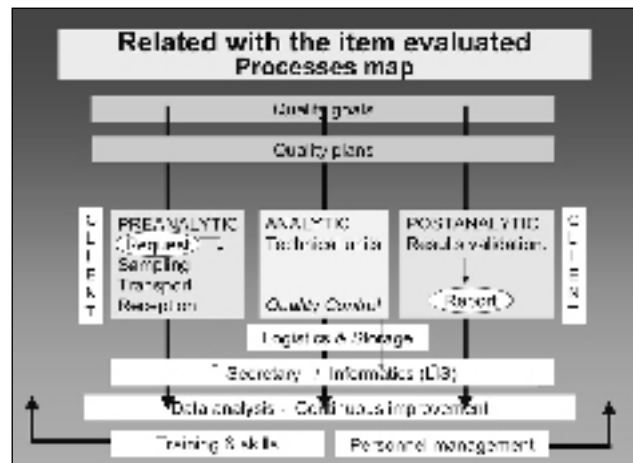
Spoločné referenčné intervaly

Pr. MANSZ Pócsa, Á. Lőrincz Deák, and K. Balogh Csabai, Szekes 2007

# QUALITY INDICATORS & SPECIFICATIONS FOR MEDICAL LABORATORIES

RICÓS CARMEN AGUILA

LABORATORIS CLÍNICS HOSPITAL VALL D'HEBRON, BARCELONA, SPAIN



**Quality indicator**

**DEFINITION**  
Data that objectively measure the functioning of a process or activity

UNE 66175 / AENOR October 2002  
Sistema de gestión de la calidad  
Guía para la construcción de sistemas de indicadores

**Related with the item evaluated**  
**ANALYTIC PROCESS. TSH**

Indicator	Formula	Result	Specification
<b>Imprecision</b>	Analytic CV (Average 12 months)	16.5%	9.7%
<b>Drift</b>	Percentage deviation of monthly mean (mean CC)	9.8%	6.9%
<b>Inaccuracy</b>	Percentage deviation of a result (mean CC)	-8.2%	22.8%

**Quality specification**

**DEFINITION**

Value of a measurement that should not be exceeded, based on a pre-established requirement

**Measurable**

**Breakdowns in the Laboratory Informatic System (LIS)**

- ✓ Nº staff hours used to resolve breakdowns
- ✓ Nº informatic breakdowns

**Quality indicator**

**CHARACTERISTICS**

- Directly related with the item evaluated
- Measurable
- Comparable over time
- Reliable
- Easy to establish, maintain and use
- Compatible with existing indicators

UNE 66175 / AENOR July 2003

**Comparable over time**

**Analytical quality outside specification (6 tests)**

Year	Number of tests
2007	15
2008	22
2009	18
2010	5
2011	3
2012	8
2013	3

### Reliable

% Reports with valid values  
(relative to all requests)

Year	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Total
2007	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8
2008	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8
2009	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8

### Q indicators & specifications within the ICS

**Catalonian Health Institute (ICS)**

- ✓ Primary care centers
- ✓ Second- and third-level hospitals

Universal health coverage for the population  
(7,000,000 inhabitants)

### Easy to establish, maintain and use

% of repeated tests

Year	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Total
2007	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
2008	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
2009	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

### Q indicators & specifications within the ICS

**AIM**

To Identify the process Indicators for the three phases of laboratory activity and their corresponding quality specifications in our setting

### Compatible with existing indicators

**CLIENT SATISFACTION**

Indicator	Formula	Result	Specification
Clinicians	Average mean (Scale 1-5)	4.5%	7.8%
Patients	Average mean (Scale 1-5)	7.6%	7.8%
Sampling areas	Average mean (Scale 1-5)	8.3%	7.8%

### Q indicators & specifications within the ICS

**MATERIAL**

10 laboratories (5 primary care, 5 hospital)

- with a process-based quality management system
- certified under the EN-ISO 9001 standard

### Quality specification

**INTERNATIONAL CONSENSUS**

- Effect on specific clinical results
- Effect on clinical decisions
- Professional recommendations
- Mandatory by law
- **State of the art**

### Quality indicator within the ICS

**METHOD - 1**

- ✓ Identify processes used
- ✓ Describe indicators for each process
- ✓ Determine formulas for calculations
- ✓ Determine frequency of testing

## Q indicators & specifications within the ICS

### METHOD - 2

- ✓ Indicators calculated
  - every month for key processes (2005)
  - yearly for strategic and support (2004)
- ✓ Current specifications
  - medians of results from the 10 labs



## Q indicators & specifications within the ICS

### RESULTS

#### PREANALYTIC OUTSIDE LABORATORY Administrative error

Indicator concerning REQUESTS	Specification
No request number	0.01 %
Request not ID-linked	0.7 %
Request erroneously ID-linked	0.17 %



## Q indicators & specifications within the ICS

### RESULTS

Key processes	N° indicators
Preanalytic	3
Analytic	4
Postanalytic	5

A. S. M. et al. Clin Chem Lab Med 2007; 45: 972-977



## Q indicators & specifications within the ICS

#### PREANALYTIC OUTSIDE LABORATORY Sampling

Indicator concerning SAMPLES	Specification
Not received	2.9 %
Insufficient	0.15 %
Wrong container	0.03 %
Hemolyzed	0.8 %
Clotted	0.95 %



## Q indicators & specifications within the ICS

### RESULTS

#### PREANALYTIC PROCESSES

Indicator	Formula	Specification
Erroneous request	$\frac{100 \times \text{No. of erroneous requests}}{\text{No. of requests}}$	4.1 %
Erroneous sample	$\frac{100 \times \text{No. of erroneous samples}}{\text{No. of samples}}$	5.0 %
Sample not taken	$\frac{100 \times \text{No. of missing samples}}{\text{No. of samples}}$	1.7 %



## Q indicators & specifications within the ICS

### RESULTS

#### ANALYTIC PROCESSES

Indicator	Formula	Specification
Ext. cont. outside limit	$\frac{100 \times \text{Ext. cont. outside limit}}{\text{No. of tests}}$	0.8 %
Imprecision	CV	5V %
Bias	$\frac{100 \times \text{mean-bias}}{\text{Target}}$	5V %
Inaccuracy	$\frac{100 \times \text{total-bias}}{\text{Target}}$	5V %



## Q indicators & specifications within the ICS

### RESULTS

#### PREANALYTIC OUTSIDE LABORATORY Missing data

Indicator concerning REQUESTS	Specification
No physician ID	0.12 %
No demographic data	0.01 %
Test not specified	0.01 %
No diagnostic orientation	0.12 %



## Q indicators & specifications within the ICS

#### ANALYTIC PROCESSES

SEUC-EQA scheme	Specification
Biochemistry	1.7 %
Hormones	2.2 %
Proteins	0 %
Urine	0 %
HbA1C	0 %
Gases	6.5 %
Cardiac Markers	0 %
Tumor markers	0 %



## Q indicators & specifications within the ICS

### POSTANALYTIC PROCESSES

Indicator	Formula	Specification
Hand copies	100% compliance	1.8 %
Critical reporting	100% compliance	0.5 %
Exceed delivery time	0% exceed of weeks	0.7 %
Referred exceed time	100% compliance	8.9 %
Network problems	no network error	25



## Q indicators & specifications within the ICS

### SUPPORT PROCESSES - Maintenance

Indicator	Formula	Specification
Instrument breakdown	no breakdown of instruments	4-5
Infrastructure	without work orders	0
Work accidents	Number zero	0
Complaints to supplier	Number zero	4



## Q indicators & specifications within the ICS

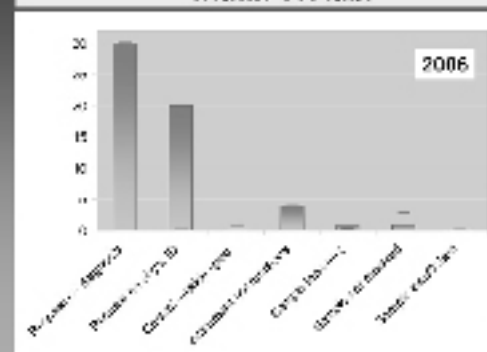
### RESULTS

PROCESSES	N° indicators
Strategic	2
Support	12

Alvim, M et al. Clin Chem Lab Med 2009;46:972-977



## Q indicators & specifications within VH lab.



## Q indicators & specifications within the ICS

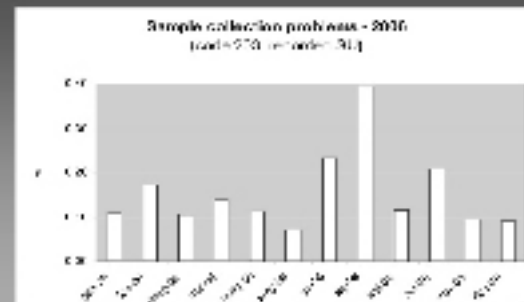
### RESULTS

#### STRATEGIC PROCESSES

Indicator	Formula	Specification
Goal compliance	Average compliance	75 - 80 %
Referred tests	100% compliance	0.6 %
Project making	100% compliance	75 - 80 %



## Q indicators & specifications within VH lab.



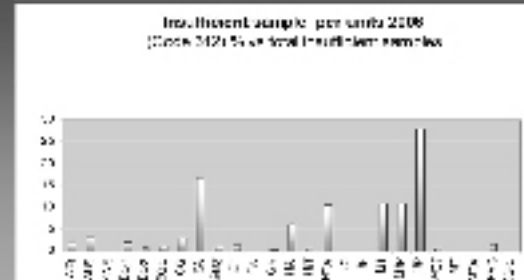
## Q indicators & specifications within the ICS

### SUPPORT PROCESSES - Clients

Indicator	Formula	Specification
Clinician satisfaction	Average enquiry score	8 over 10
Patient satisfaction	Average enquiry score	8 over 10
Written complaints	Number zero	2
Oral complaints	Number zero	15
Consultations	00% compliance	ND

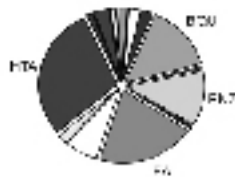


## Q indicators & specifications within VH lab.



## Q indicators & specifications within VH lab.

Instrument breakdown - 2004  
(total 100%)  
(% each unit vs. total)



## Ex. of improvement action

Hard copies monitor

2004  
2.6%

2005  
1.8%

Spec.



✓ Results to e-CAP

1.8%



## Q indicators & specifications

### DECISION MAKING

- If an indicator exceeds its desirable specification



- Initiate an improvement action



## Q indicators & specifications

### CONCLUSIONS

- At least one indicator for each process
- Define specification
- Act consequently



## Ex. of improvement action

External controls outside specification

2004  
4.7%

2005  
6.8%

Spec.



✓ Instrument change

5.0%



---

# ŠIRŠÍ KONTEXT SYSTÉMOV HODNOTENIA ČINNOSTI ORGANIZÁCIÍ A ICH VZŤAH K HODNOTENIU KVALITY KLINICKÝCH LABORATÓRIÍ

---

KOVÁČ GUSTÁV, PORUBENOVÁ ANNA

ÚSTAV CHÉMIE, KLINICKEJ BIOCHÉMIE  
A LABORATÓRNEJ MEDICÍNY, SLOVENSKÁ  
ZDRAVOTNÍCKA UNIVERZITA BRATISLAVA

## ÚVOD

V tomto príspevku chceme na modeli intelektuálneho kapitálu – menovite na 4 príkladoch metód jeho merania – poukázať na analógiu a paralely tejto problematiky hodnotenia organizácie s problematikou hodnotenia kvality klinických laboratórií. Medzi analógie a paralely patrí viac otázok týkajúcich sa rovnako intelektuálneho kapitálu ako aj systémov hodnotenia kvality v klinických laboratóriách. Uvádžeme najdôležitejšie z nich:

- je výhodné sústrediť sa na čo najužšie spektrum indikátorov?
- alebo je vhodnejšie využiť širšie spektrum ukazovateľov, resp. pohľad z niekoľko zorných uhlov?
- je výhodné sústrediť sa výlučne na merateľné (kvantitatívne – hard) ukazovatele a kritériá?
- alebo radšej využiť súbor menej hmatateľných (kvantifikovateľných) alebo o to výstižnejších kritérií a ukazovateľov?

Model intelektuálneho kapitálu sme zvolili preto, lebo hodnotí oblasť činnosti organizácie, ktorú donedávna nebolo zvykom vyhodnocovať vo výročných správach o stave organizácie. Vývoj za posledných 20 rokov ukázal, že to potrebné je, lebo ináč ťažko dospejeme ku komplexnému a pravdivému obrazu. Za toto obdobie sa nazbierali mnohé skúsenosti. Myslíme si, že by tieto bolo možné a snád' aj vhodné využiť a zohľadniť pri diskusii o systémoch hodnotenia kvality a indikátoroch kvality klinických laboratórií. Naším zámerom je prispieť k tomu, aby sa neopakovali chyby ktoré sa stali inde, aby sme neobjavovali objavené a aby sme pomohli urýchliť vývoj v tejto oblasti.

## K definícii intelektuálneho kapitálu

Na úvod si dovoľujeme uviesť 7 príkladov definície intelektuálneho kapitálu, aby sme ozrejmili, čo sa pod týmto pojmom myslí:

- Intellectual capital is „intellectual action“ (Galbraith 1969)
- Intelektuálny kapitál je „vedomosť, ktorá existuje v rámci organizácie, a ktorú je možné použiť na vytvorenie diferenciálnej výhody“ (Stewart 1991)
- Intelektuálny kapitál je „aktívum, ktoré je v súčasnosti na výsledovke hodnotené ako 0“ (Wallman 1995)
- Patenty, procesy, manažérske zručnosti, technológie, informácie o zákazníkoch a dodávateľoch a skúsenosti, ktoré vyšli z módy. Sčítané dohromady – toto predstavuje intelektuálny kapitál (Stewart 1995)

- Intelektuálny kapitál predstavuje aktiváciu vedomostí a nehmateľných aktív do použiteľných zdrojov, ktoré poskytujú kompetitívnu výhodu pre jedincov, firmy a spoločnosť ( Keith Bradley 1996 )
- identifikovali sme 4 kategórie nehmateľných aktív: ľudia, intelektuálne vlastníctvo, infraštruktúra a trh, ktoré sa spoločne zahŕňajú pod pojem intelektuálneho kapitálu (Brooking 1997)
- Intelektuálny kapitál firmy zahŕňa tri prvky: ľudí, zákazníkov a štruktúru (Saint-Onge 1996).

## Ciele

- Poskytnúť prehľad o niektorých metódach na meranie intelektuálneho kapitálu.
- Pomôcť vytvoriť predstavu ako by mala vyzeráť správa o intelektuálnom kapitále.
- Pokúsiť sa na paralelách a analógiách vysvetliť, prečo by takýto prístup bolo vhodné zohľadniť pri diskusii o indikátoroch kvality činnosti klinických laboratórií.

## Metóda

V príspevku sa budeme zaoberať:

- Vývojom systémov a metód na meranie intelektuálneho kapitálu
- Príkladmi hlavných metód na meranie intelektuálneho kapitálu – menovite metódami
- Balanced scorecard
- Scandia navigator
- Intangible assets monitor
- Intellectual capital index.

## Výsledky

### A. Vývoj systémov na meranie intelektuálneho kapitálu

Systémy na meranie intelektuálneho kapitálu prešli vývojom. Prvý z nich „Balanced Scorecard“ stanovil užitočnosť vyvážených mier vzhľadom ku stratégii organizácie. Identifikoval prvky merania, ktoré stoja za finančnými ukazovateľmi, a ktoré kvantifikujú stupeň úspešnosti organizácie v súvislosti so stanovenou stratégiou.

Druhý z nich „Scandia Navigator“ prevzal princípy Balanced scorecard a zovšeobecnil ich. Na ich základe vypracoval metódu hodnotiacu úroveň intelektuálneho kapitálu v organizácii a vytvoril vhodný jazyk ako artikulovať výsledky merania vo výročnej správe.

Metóda „Intangible Assets Monitor“ sa sústredila na zamestnancov, menovite na kvantifikáciu ako pracovníci prispievajú k rastu organizácie, dosahovaniu jej cieľov a ku zvyšovaniu účinnosti metód, ktoré organizácia používa.

Napokon metóda „Intellectual Capital Index“ predstavuje pokus o agregáciu viacerých ( vyššie uvedených prístupov a kritérií ) do jedného spoločného menovateľa. Uvedené systémy sa vyvíjali približne 20 rokov. Môžeme tak hovoriť o prvej, druhej a tretej generácii vývoja metód na meranie intelektuálneho kapitálu. Hoci žiadne dve z metód/systémov nie sú identické, existuje rad podobností a paralel medzi nimi.



## B. Balanced Scorecard

V roku 1992 predstavili Kaplan a Norton metódu na meranie intelektuálneho kapitálu, ktorá vychádzala z dlhoročných skúseností s prácou na projekte, ktorého sa zúčastnilo 12 organizácií a cieľom ktorého bolo: „give top managers fast but comprehensive view of the business“. Metóda bola založená na štyroch rozdielnych kategóriách kritérií (zorných uhlov pohľadu na organizáciu):

- financií
- zákazníka
- „internal business“
- inovácie a učenia sa.

Zorné uhly boli navzájom prepojené tak, aby bolo vidieť, ktorá zložka sa zlepšila a v akom je vzťahu k ostatným. Indikátory pre každú oblasť sú pritom flexibilné a možno ich „ušiť na mieru“ pre každú organizáciu tak, aby boli v čo najužšom vzťahu ku stratégii, ktorú organizácia sleduje. Zmyslom bolo dať vedeniu na strane jednej nástroj na riadenie a kontrolu vízie a stratégie organizácie, ale aj súčasne dať zamestnancom do ich vlastných rúk nástroje na realizáciu tejto stratégie v praxi. Metóda „balanced scorecard“ sa vo všeobecnosti považuje za nástroj, ktorý umožňuje sústrediť sa organizácii na hnacie sily a rozhodujúce indikátory budúceho výkonu.

Financie	Zákazník	Internal business	Inovácie a učenie sa
Návratnosť investícií	Index cien	% pracovného času venovaného inováciám	% príjmov z nových služieb
Učinnosť	Výsledky prieskumu	Účinnosť v internosti	Index zručnosti
Zisk	Index spokojnosti	% reklamácií	Výsledky prieskumu zamestnancov
Predpoved zisku	Podiel na trhu	Index bazochovosti	Podiel nových nájemov
Nespokojnosť		Index nespokojnosti s dokončením projektov	Príjem na zamestnanca

Obr. 1. Parametre Balanced Scorecard

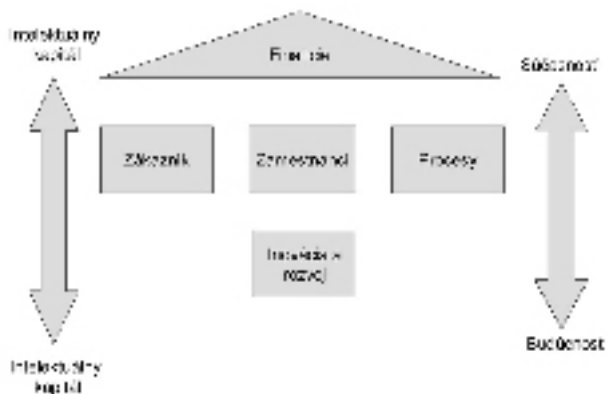
## C. Scandia Navigator

Scandia AFS (švédská finančná skupina) zaviedla v roku 1994 systém, ktorý prispel k rozvoju jazyka a zrozumiteľnosti indikátorov a kritérií intelektuálneho kapitálu, ktorý sa používa v správach. Bola snaha postaviť hlavné kategórie indikátorov, ktoré systém využíva do čo možno najrovnovážnejšej polohy v rámci viacerých perspektív pohľadu na danú organizáciu. Hlavné oblasti, na ktoré sa systém sústreďoval boli:

- financie
- zákazník
- zamestnanci
- procesy
- inovácia a vývoj.

Zamestnanci boli pritom ústredným bodom, okolo ktorého sa daná rovnováha vytvárala. Sledovanie schémy

systému „Scandia Navigator“ zhora nadol nám umožňuje ukázať pohyb zo súčasnosti do budúcnosti. Ide o oveľa systematickejší popis organizácie, ktorý sa sústreďuje na jej schopnosti a jej potenciál transformovať intelektuálny kapitál do finančného kapitálu.



Obr. 2. System Scandia Navigator

## D. Intangible Assets Monitor

V roku 1997 zaviedla firma „Sveiby Knowledge Management“ systém, ktorý definoval hlavné oblasti záujmu organizácie:

- Vnútnu štruktúru ktorú vlastní organizácia. Ide hlavne o:
  - patenty
  - koncepcie
  - modely
  - IT a administratívne systémy.
- Externú štruktúru, ktorú vlastní organizácia len čiastočne, lebo sa na nej podieľajú aj zložky mimo organizácie. Ide hlavne o
  - značky
  - logo
  - imidž.
- Schopnosti zamestnancov, ktoré organizácia nevláda, ale ktoré vlastní konkrétne osoby – jej zamestnanci, ktorí sa na základe vlastnej úvahy môžu rozhodnúť, či pre organizáciu budú pracovať alebo nie. Ide hlavne o:
  - zručnosti
  - vzdelanie
  - skúsenosti
  - hodnoty
  - sociálne zručnosti.

Na rozdiel od Balance Scorecard a Scandia Navigator sa vyššie uvedené indikátory konkrétne vyhodnocujú, do akej miery prispeli každý z nich k

- rastu organizácie a inováciám v nej
- účinnosti aplikovaných metód
- stabilite organizácie.

	Externí Indikátory	Interní Indikátory	Kompetencie
Rast a inovácia			
Účinnosť			
Stabilita			

Obr. 3. Intangible Assets Monitor

### E. Index intelektuálneho kapitálu

Goeran and Johan Roos zaviedli v r. 1997 metódu, ktorá sa snaží obsiahnuť hlavné oblasti charakterizujúce intelektuálny kapitál do „účinnostného indexu“. Tento index je možné používať na jasnú a stručnú vizualizáciu účinnosti využívania intelektuálneho kapitálu v organizácii. Metóda sa podobne ako vyššie uvedené snaží identifikovať indikátory, ktoré sú charakteristické pre danú organizáciu. Na rozdiel od vyššie uvedených metód však indikátory, ktoré sa používajú na hodnotenie organizácie sa kombinujú a uvádzajú na spoločného menovateľa za účelom poskytnúť komplexnejšie a jednoduchšie kritérium výkonu a účinnosti organizácie. Na ilustráciu uvádzame príklady hierarchie a kategórií indikátorov, ktoré sa využívajú pri výpočte indexu

- Vzťahy
  - rast
  - dôvera
  - zákazníci
  - distribučné kanály
- Infraštruktúra
  - účinnosť
  - výkonnosť
  - utilizácia
  - distribúcia
- Zamestnanci
  - kľúčové faktory úspechu
  - tvorba hodnôt na zamestnanca
  - účinnosť a výkonnosť výcviku
- Inovácia
  - schopnosť vytvárať nové oblasti biznisu
  - schopnosť vyrábať kvalitné výrobky
  - rast
  - schopnosť zlepsovať výkonnosť.

### DISKUSIA

Výsledky merania a ich vzťah k hodnoteniu organizácie v správe

Ak majú výsledky meraní úroveň intelektuálneho kapitálu mať zmysel, mali by sa premietnuť do zrozumiteľného jazyka, ktorý by sa použil v správe, ktorá podáva informáciu o jeho úrovni a stave v organizácii. Ak majú byť výsled-

ky zrozumiteľné a správne pochopené, správa by mala mať určitú štruktúru:

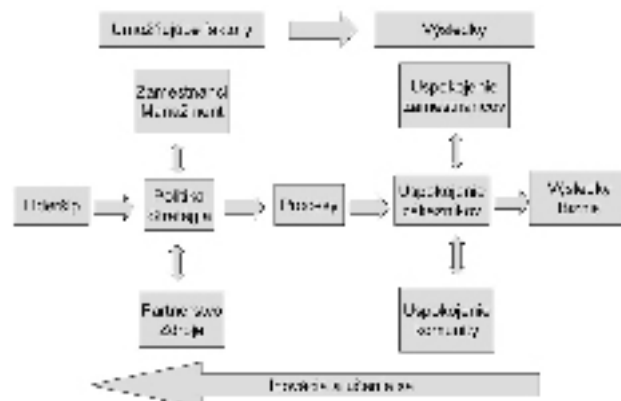
- mala by začať vysvetlením, aký význam má meranie intelektuálneho kapitálu pre organizáciu a hlavne pre dosahovanie jej konkrétne vytýčených cieľov
- potom by mala nasledovať časť, ktorá popisuje ako sa dospelo k jednotlivým indikátorom a kritériám a aká je ich presná definícia a význam
- na záver by sa v správe malo uviesť, ako sa vyššie uvedené indikátory a kritériá podieľajú na súčasnom stave organizácie – jej raste, prípadne poklese.

Nemú ísť pritom o monetárne indikátory, ale o podstatne menej štandardné formy charakterizujúce špecifické oblasti ovplyvňujúce „trhovú hodnotu“ organizácie.

Do akej miery sú potrebné správy o intelektuálnom kapitále organizácie?

Meranie nehmateľných aktív je zahrnuté do požiadaviek, ktoré vládne úrady, ako napríklad „Security Exchange Commission“ alebo „Food and Drug Administration“ v USA vyžadujú do hodnotiacich správ o stave organizácií.

Tradičné správy o stave organizácií, ktoré sa sústreďujú hlavne na kvantitatívne ukazovatele sa nepovažujú za dostatočne spoľahlivé, pretože jednak poskytujú informáciu o minulosti a len veľmi málo o budúcnosti a perspektívach organizácie, jednak zanedbávajú možno menej hodnotiteľné, ale o to výstižnejšie okolnosti a trendy v organizácii, ktoré v budúcnosti môžu rozhodujúcim spôsobom ovplyvniť jej vývoj (dovoľujeme si v tejto súvislosti poukázať na správy o stave organizácie Enron, ktoré túto časť neobsahovali).



Obr. 4. European Quality Foundation Model

Na záver si dovoľujeme pripomenúť model, ktorý bol navrhnutý na hodnotenie kvality organizácií v Európe. O význame, relevantnosti a potrebe využiť tento model v laboratórnej diagnostike sa už viac rokov diskutuje na viacerých medzinárodných fórach.

Model komplexne hodnotí organizáciu na základe kvality jej

- vstupov: manažmentu, politik a zdrojov
- procesov: ktoré sú špecifické pre každú organizáciu (spoločné však pre všetky sú minimum rozhraní

a priamočiarosť procesov)

- výstupov: pre klienta, pre zamestnanca a pre organizáciu.

Zdôrazňujeme, že ide o dynamický model, ktorého prvky s spolu súvisia a navzájom sa ovplyvňujú.

Dovoľujeme si zvlášť upozorniť na analógiu a podobnosti vo filozofii, prístupe a princípoch, ktoré tento model využíva s metódami hodnotiacimi intelektuálny kapitál v organizácii. Tento model by mal čitateľom pomôcť preklenúť existujúci hiátus, ktorý môže vzniknúť pri porovnávaní paralel a analógií hodnotenia intelektuálneho kapitálu a indikátorov kvality v laboratórnej diagnostike.

## ZÁVER

Cieľom príspevku bolo vzbudiť pozornosť a vyvolať diskusiu o zmysle, význame a cene hodnotenia intelektuálneho kapitálu a poukázať na viaceré paralely a analógie s hodnotením kvality klinických laboratórií.

Existujú názory, že meranie intelektuálneho kapitálu je „na novo zabalená metóda“ predošlých pokusov ako boli: benchmarking, competence models, business worth, knowledge banks, colorized reporting a ďalšie. Podstatná je však skutočnosť, ktorá intelektuálny kapitál odlišuje od predošlých prístupov: intelektuálny kapitál sa sústreďuje na meranie nehmatateľného (resp. menej hmatateľného).

Štatistické a kvantitatívne metódy nastavujú pasce, do ktorých sa rizik neznalých praktík môže veľmi ľahko chytiť. Power (1994) spochybnil význam a hodnotu a auditov vo všeobecnosti a kvantitatívnych meraní menovite. Uviedol 3 dôvody pre ich potenciálnu deštruktivitu:

- audit môže zvýšiť nejasnosť a nezrozumiteľnosť namiesto zvýšenia transparentnosti
- ak sa raz vybuduje systém auditu a zavedie sa do praxe, už nikdy nevzniknú pochybnosti o jeho užitočnosti a zmysle
- systémy auditov sú vytvárané na základe toho čo sa dá merať alebo čo sa dá kvantitatívne hodnotiť - bez ohľadu na to či to má zmysel alebo nie.

Metódy hodnotenia intelektuálneho kapitálu sa naopak zameriavajú na to, čo má zmysel pre organizáciu, aj keď sa to často dá merať oveľa ťažšie (niekedy ak vôbec).

## ODPORÚČANIA

Tradičné metódy hodnotenia organizácií sa spoliehajú na „tvrdé“ údaje a čísla (dlh, kapitál, odpisy, príjem). Ukázalo sa však, že tieto všetky sa dajú zmanipulovať, aby sa zvýraznila atraktivita firmy na trhu pre investorov (sic. vyššie uvedený Enron). Je to dokonca možné aj v prostredí, ktoré je „highly regulated“. Teda - môže tak prísť k falošným interpretáciám. Soft metódy na hodnotenie organizácie ako je meranie intelektuálneho kapitálu určite nie sú všeliakom alebo náhradným riešením. Rozhodne však môžu pomôcť pri vytváraní komplexného a pravdivého obrazu o stave organizácie – samozrejme za podmienky dodržiavania pravidiel štandardného prístupu. To platí pre intelektuálny kapitál rovnako ako pre indikátory kvality.

## POZNÁMKA

Traja čínski filozofovia sa stretli, aby sa vyjadrili ku chuti octu – čínskeho symbolu ducha života:

*Konfucius* ocot ochutnal a povedal: je kyslý

*Budha* ocot ochutnal a povedal: je horký

*Lao Tse* ocot ochutnal a povedal: je čerstvý.

To čo vyhlásili traja čínski filozofovia o octe, platí v prenesenom slova zmysle aj pre indikátory kvality laboratórnej diagnostiky.

## LITERATÚRA

1. Brooking, A.: *Intellectual Capital*, London, International Thompson Business Press, 1996.
2. Eccles, E.: *The performance measurement manifesto*, Harvard Business Review, 1991, 69, 1, 131–137.
3. Kaplan, R. S., Norton, D. P.: *Putting the balance scorecard at work*, Harvard business review, 1997, 17, 128–130
4. Power, M.: *The Audit Society*, in: *Accounting as Social and Institutional Practice*, Cambridge University Press, 1994.
5. Kováč, G., Goldschmidt, H.: *Application of quality evaluation indications to monitor effects of a major laboratory change-over*, Clinical chemistry, 2003, 49, 6S, A 18.
6. Kováč, G.: *EFQM for TQM: totálny manažment kvality podľa modelu Európskej nadácie pre manažment kvality*, Laboratórna diagnostika, 2003, 7, 2–3, 46–49.
7. Kováč, G., Hladík, M., Pavlík, M., Móricaová, Š., Urge, O., Schmidtová, K., Krčmáriková, J., Gelieňová J., Urge, O., Mistríková, E., Porubenová, A.: *Hodnotenie procesu integrácie a konsolidácie laboratórnej diagnostiky vo FNPaLD v Bratislave pomocou modelu EFQM*, Laboratórna diagnostika, 2003, 7, 2–3, 50–58.

---

# SKÚŠENOSTI Z PRÍPRAVY A UDRŽOVANIA AKREDITÁCIE V KLINICKÝCH LABORATÓRIÁCH

---

ŠPAČEK LUBOMÍR

PORADENSKÁ ČINNOSŤ SYSTÉMOV  
MANAŽÉRSTVA KVALITY V ZDRAVOTNÍCKYCH  
LABORATÓRIÁCH, BRATISLAVA

## PRÍPRAVA AKREDITÁCIE

Príprava klinického laboratória na akreditáciu môže byť značne časovo, pracovne i finančne náročným procesom. Na niektorých pracoviskách to trvá už 8 rokov. Pri intenzívnom a efektívnom prístupe to však môže trvať 6–12 mesiacov.

### 1. Postoj ku kvalite. Kvalita a akreditácia

Záujem o kvalitu navonok deklaruje každý vedúci pracovník medicínskeho laboratória. Niekedy však máme postoj ku kvalite, ako k niečomu, čo by možno bolo dobré mať, ale je mnoho dôvodov prečo to stačí, ako to je. Na kvalitu sa niekedy pozerá ako na nejakú ozdobu. Kvalita však nie je nejaká ozdoba, je to základ. Možno sa domnievame, že v laboratóriách už máme postačujúcu kvalitu.

*Kvalita:* miera, s akou súbor vlastných charakteristík spĺňa požiadavky. ISO 9000:2001, čl. 3.1.1

*Požiadavka:* potreba alebo očakávanie, ktoré sa určuje, všeobecne sa predpokladajú alebo sú povinné. ISO 9000:2001, čl. 3.1.2

Prijatá filozofia kvality, znamená vnášať kvalitu do všetkých sfér života, najmä do tých, ktoré môže konkrétny človek priamo ovplyvňovať. Všetci chceme v živote, aby sa nám dostávalo kvalitných služieb, produktov, medziludských vzťahov, životného prostredia atď. Náš život je značne ovplyvňovaný činnosťou iných ľudí a my ovplyvňujeme nielen svoj život ale i život ostatných ľudí.

Tieto možnosti ovplyvňovať nielen svoj život ale i život iných ľudí nie sú malé, ale omnoho väčšie než si bežne uvedomujeme. Predovšetkým ak sa upriamime na veci na ktoré máme priamy dosah, za ktoré sme ochotní prevziať zodpovednosť.

Často podliehame ilúzii, že niekto samozrejme zabezpečuje, že veci okolo nás bežia spoľahlivo, správne, že niekto to zariadi. Tak sa ľudia tiež domnievajú, že výsledky klinických laboratórnych vyšetrení sú správne, že v laboratóriách sú odborníci, ktorí to garantujú.

My, pracovníci v zdravotníckych laboratóriách, sme zodpovední predovšetkým za túto našu oblasť. My musíme byť schopní garantovať maximálnu dôveryhodnosť výsledkov poskytovaných našimi laboratóriami. Garantujeme ju skutočne, nielen formálne, ale i fakticky?

Predstava, čo to je kvalita v medicínskom laboratóriu, je často veľmi zúžená i u samotných pracovníkov klinických laboratórií. Mať zavedenú nejakú oklieštenú formu tzv. vnútornej kontroly kvality (IQC) často bez náležitého vyhodnotenia, prípadne nejakú formálnu účasť v systéme

externého hodnotenia kvality (EHK) bez vyhodnotenia a ďalšieho využitia výsledkov, je často celý obsah predstavy o zabezpečení kvality.

Môžeme veľa debatovať o tom, teda čo by ešte malo byť do obsahu slova kvalita v medicínskom laboratóriu zahrnuté, názory budú pochopiteľne rôzne.

Tento problém, ako by mala kvalita v klinickom laboratóriu vyzeráť, je už spracovaná a je k dispozícii vo forme štandardu kvality ako STN EN ISO 15189:2007.

Už pri letmom pohľade na požiadavky tohoto štandardu kvality má väčšina pracovníkov medicínskych laboratórií problém plne konfrontovať ich obsah. Mnohé požiadavky sa javia byť nezrozumiteľné, nezmyselné, prehnané, byrokratické, obtiažne realizovateľné a pod. Avšak schopnosť konfrontovať niektorý zo štandardov kvality, je výborný test toho, do akej miery sú naše bežné predstavy vzdialené od toho, čo môžeme považovať za definovanú kvalitu, čo možno považovať za dôveryhodné zabezpečenie kvality služieb medicínskeho laboratória.

Činnosti v laboratóriu, ktoré sa podieľajú na tvorbe výsledku laboratórneho vyšetrenia, vytvárajú systém. Preto i prístup ku kvalite musí byť systémový a práve štandardy kvality napr. STN EN ISO/IEC 17025:2005 alebo STN EN ISO 15189:2007 definujú požiadavky na systém manažérstva kvality. Škoda, že pri novelizácii STN EN ISO 15189:2007, ktorá prebehla v tomto roku sa do normy nedostal procesný prístup tak ako je obsiahnutý v STN ISO 9001:2001.

### Môže byť kvalita bez akreditácie?

Môže laboratórium pracovať kvalitne bez toho, aby bolo akreditované? Môže, ale je to dosť málo pravdepodobné. Prečo? Práve pre našu neschopnosť konfrontovať komplexný systémový prístup ku kvalite. Pracovníci v medicínskych laboratóriách majú tendenciu pristupovať k týmto požiadavkám selektívne. „No toto by som bral, ale toto je zbytočná byrokracia“ a pod.

Na to, aby bol človek ochotný prekonávať vnútorné bariéry (nechuf meniť svoje návyky, učiť sa niečo nové, riešiť nové problémy, pocit že, predsa on vie dobre, čo na kvalitu plne stačí a pod.) a prekonávať vonkajšie ťažkosti spojené s reálnou implementáciou požiadaviek do prevádzky laboratória (peniaze, čas, informácie, personál atď.), musí mať dostatočne veľkú dávku motivácie.

Tak, že skutočne komplexná implementácia požiadaviek štandardov kvality obvykle nastane až v procese akreditácie laboratória. Vtedy si laboratórium nemôže vyberať len ľahšie stráviteľné kúsky, ale musí predostreť „menu“ akceptovať také, aké je.

To, že dostatočná motivácia k prekonaniu uvedených bariér asi chýba, naznačuje fakt, že s cca 200 medicínskych laboratórií na Slovensku sa zatiaľ akreditovalo len 15. S toho jedno laboratórium akreditované mimo SNAS. Podľa ISO 15189 je zatiaľ akreditované iba jedno laboratórium a dve sú v záverečnom štádiu prípravy. Niekoľko laboratórií ma certifikovanú Správnu laboratórnu prax.

**Tabuľka č. 1: Prehľad akreditovaných medicínskych laboratórií SNAS**  
(www.snas.sk)

Člen. č.	Akredit. subjekt	Akredit. pracovisko	Osv. č.	Vydanédňa	Platnosťdo
188	Analyticko-diagnostické laboratórium s.r.o.	(ML)	M-005	21.08.2006	03.02.2008
228	ASMEA s.r.o.	Biochemicko-hematologické laboratórium (BHL)	M-011	21.12.2006	21.12.2009
262	BIORTG Kežmarok, s. r. o.	Laboratórium Komárno (ML)	M-007	26.05.2006	01.10.2008
245	Fakultná nemocnica Nitra	Ústav klinickej mikrobiológie	M-015	12.07.2007	12.07.2010
108	Fakultná nemocnica s poliklinikou Bratislava	pracovisko Kramáre, Klinika laboratórnej medicíny (ML)	M-001	26.09.2005	01.07.2008
176	HPL spol. s r.o.	Mikrobiologické laboratória (ML)	M-004	15.07.2006	08.12.2007
237	Imunoalergológia Dzurilla s. r. o.	Laboratórium klinickej imunológie a alergológie (ML)	M-009	21.08.2006	21.08.2009
219	Klein & Gefferth, spol. s r. o.	Laboratórium klinickej biochémie (ML)	M-008	26.06.2006	26.06.2009
238	Medy, s. r. o.		M-012	21.12.2006	21.12.2009
152	Onkologický ústav sv. Alžbety, s.r.o.	Ústav laboratórných vyšetrovacích metód	M-003	27.04.2007	24.04.2011
125	Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Košiciach	Odbor lekárskej mikrobiológie (ML)	M-010	21.08.2006	21.08.2009
061	Slovenská zdravotnícka univerzita	Vedeckovýskumná základňa SZU, Laboratória klinickej mikrobiológie a príónových chorôb	M-006	30.11.2006	30.09.2007
		VVZ-SZU, Laboratórium imunológie	M-013	30.06.2007	30.06.2010
124	Úrad verejného zdravotníctva Slovenskej republiky	Odbor lekárskej mikrobiológie ÚVZ SR (ML)	M-014	13.06.2007	13.06.2010

Predpoklady úspešnej akreditácie klinického laboratória

Je nutné, aby klinické laboratórium uchádzajúce sa o akreditáciu vykonávaných vyšetrení:

- malo predovšetkým primeraný odborný a technický personál, ktorý je schopný garantovať dostatočnú odbornú úroveň poskytovaných služieb a porozumieť systému manažérstva kvality (SMK) a aktívne sa podieľať na tvorbe dokumentov SMK a pri jeho implementácii do prevádzky laboratória
- bolo schopné zabezpečiť dokumentáciu štandardných pracovných úpostupov (ŠPP) a dokumentáciu ich overovania
- bolo schopné zabezpečiť dokumentáciu prístrojov

a postupov obsluhy a údržby

- bolo schopné zabezpečiť funkčný systém vnútorného zabezpečenia kvality (IQC) a externého hodnotenia kvality (EQA), interpretáciu výsledkov IQC a EQA a prijímanie a plnenie účinných nápravných opatrení
- bolo schopné zabezpečiť primeraný dohľad nad pracovníkmi a všetkými vykonávanými činnosťami.

Užitočné manažérske prístupy

V súvislosti s prípravou na akreditáciu je vhodné si uvedomiť a uplatniť niektoré princípy efektívneho manažmentu stručne načrtnuté v nasledovnom prehľade.

Porozumenie:

Dôležitým predpokladom efektívnej prípravy na akreditáciu ale i akejkoľvek činnosti je dosahovanie porozumenia danej oblasti, vzájomného porozumenia medzi ľuďmi a pod.

Porozumenie je neoddeliteľne späté s tromi faktormi – afinitou, realitou a komunikáciou.

Pod afinitou rozumieme vzťah náklonnosti k niečomu alebo k niekomu. Ak chceme niečomu alebo niekomu porozumieť, je potrebné aby sme cítili určitú afinitu. Od manažmentu sa očakáva, že bude mať dostatočnú afinitu k akreditácii a túto afinitu preniesie i na ostatných pracovníkov.

Realitou sa rozumie to čo si človek o danej veci alebo oblasti myslí, s čím súhlasí, že to tak je. Realita sa rozširuje poznaním, štúdiom, komunikáciou. Čím majú ľudia väčšiu spoločnú realitu, tým dosahujú väčšiu mieru porozumenia a schopnosti efektívnej spolupráce.

Komunikácia je výmena informácií napr. medzi ľuďmi. Človek však môže byť, a mal by byť v komunikácii s prostredím, s okolitým svetom, s činnosťou ktorú vykonáva a pod.

Veľkosť porozumenia je daná veľkosťou týchto jednotlivých faktorov – afinity, reality a komunikácie. Všetky tieto faktory môžeme aktívne ovplyvňovať a využívať k lepšiemu porozumeniu. Pre manažéra je to účinný nástroj, ako vytvoriť podmienky pre efektívnu činnosť podriadených pracovníkov. Komunikácia je najdôležitejším faktorom, pomocou nej môžeme zvyšovať afinitu i realitu a zvyšovať porozumenie a dosahovať efektívnu činnosť dávajúcu dobrý výsledný produkt.



Obrázok č. 1. Porozumenie ako výsledok afinity, reality a komunikácie

### Kontrola, riadenie

Kontrola (riadenie) je nevyhnutná v akejkoľvek činnosti a je podstatnou funkciou manažéra. Kontrola je obsiahnutá v SMK.

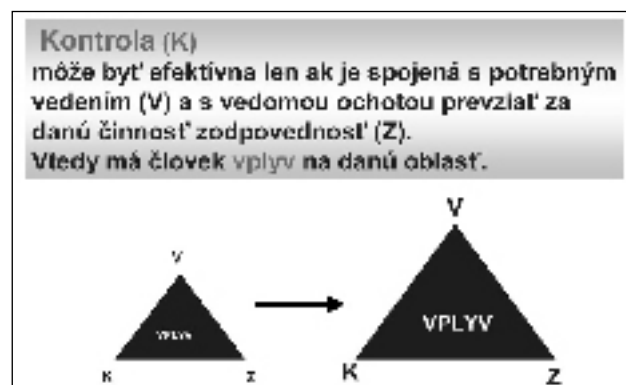
Kontrola je spätá s ďalšími dvoma faktormi, s vedením (poznaním) a zodpovednosťou. Aby som mohol niečo riadiť musím to dostatočne poznať, mať o tom dostatok utriedených informácií. Vedenie má vzťah už k vyššie spomenutému porozumeniu. Taktiež musím mať ochotu prebrať

za danú činnosť, oblasť alebo ľudí zodpovednosť. Pokiaľ niektorý z týchto faktorov chýba, nebudem schopný danú oblasť efektívne riadiť.

Samotná kontrola (riadenie) sa dá redukovať na ochotu a schopnosť začínať (štartovať) činnosti, veci alebo iných ľudí, udržiavať ich v behu, v činnosti a vo vhodnom čase, ak je to potrebné činnosti, veci alebo iných ľudí zastavovať (ukončovať). Dobrá kontrola musí mať zvládnuté všetky tieto tri časti.

Činnosti treba spúšťať, potrebný čas musia prebiehať a keď splnia svoju funkciu alebo sa ukážu ako neaktuálne, treba ich zastaviť. Týka sa to ktorýchkoľvek vlastných činností ale i činností podriadených pracovníkov. Rovnako sa to dá aplikovať napr. na riadenie dokumentácie. Dokument je po vypracovaní schválený a daný do používania, potom prebieha sledovanie a udržiavanie jeho používania a sledovanie aktuálnosti a nakoniec, keď splnil svoj účel, alebo, keď sa stal neaktuálny, je zastavená jeho platnosť a používanie a je odstránený.

Zlyhania sa prakticky môže vyskytnúť v ktorejkoľvek z týchto častí cyklu kontroly.



Obrázok č. 2. Vplyv na činnosť ako výsledok vedenia, zodpovednosti a kontroly

Tieto jednoduché prístupy môžu byť v praxi využívané, ako veľmi účinný nástroj na zvýšenie efektívnosti akejkoľvek činnosti, vlastnej činnosti pracovníka ale i v riadiacej činnosti manažéra napr. v procese zavádzania a udržiavania SMK.

V príprave akreditácie ale i po jej dosiahnutí je potrebné s pracovníkmi čo najviac komunikovať o všetkom čo súvisí s akreditáciou, starostlivo vysvetľovať, počúvať a akceptovať pripomienky a predovšetkým prenášať na pracovníkov čo najväčšiu afinitu k akreditácii a všetkým zmenám ktoré s ňou súvisia.

Zo SMK vyplývajú zodpovednosti za vykonávanie činností a ich riadenie. Dostatočné znalosti všetkých pracovníkov, riadiacich, odborných i technických, ochota prevziať zodpovednosť a schopnosť vykonávať naozaj efektívnu kontrolu (riadenie) činností sú nevyhnutné pre fungovanie SMK.

## 2. Prečo STN EN ISO 15189:2007?

Ak manažment medicínskeho laboratória nemá kvalitu ako prioritnú úlohu je asi najlepšie ak si zavedie nejaký jednoduchý, bezbolestný spôsob, ako môcť deklarovať, že má nejaký „systém kvality“. Skutočne, namáhať sa s akreditáciou tu nemá význam. Pre ten účel je to veľmi pracné a tiež to nieje lacná záležitosť.

Ak to manažment medicínskeho laboratória myslí s kvalitou skutočne vážne, tak potom treba jednoznačne siahnuť po štandarde kvality definovanom normou STN EN ISO 15189:2007.

STN EN ISO 15189:2007 smeruje laboratórium, aby sa zamýšľalo, a vykonalo konkrétne akcie na to, ako zlepšiť svoj príspevok k starostlivosti o pacienta a bolo naozaj klinickým laboratóriom. Vedie ho k tomu, aby málo stály zreteľ na blaho pacienta, ktorý je konečným terminálom služieb klinického laboratória.

V rámci poradenskej činnosti pri implementácii STN EN ISO 15189:2007 do prevádzky medicínskeho laboratória v procese prípravy na akreditáciu, mám možnosť sledovať, ako pracovníci laboratória postupne zvyšujú svoju schopnosť konfrontovať požiadavky normy a ako sa reálne zlepšuje kvalita všetkých činností a záujem nielen o klienta ale i záujem o pacienta sa skutočne stáva predmetom ich záujmu.

V každej z 15 kapitol požiadaviek na manažment a z 8 kapitol odborných požiadaviek STN EN ISO 15189:2007 je zrejmá znalosť špecifik medicínskeho laboratória a predovšetkým orientácia na pacienta.

Príklady niektorých oblastí, kde STN EN ISO 15189:2007 vedie medicínske laboratórium k tomu, aby bolo skutočne medicínske:

- poradenské služby – explicitne definované body informačnej príručka pre klientov
- predanalytická fáza s explicitne definovanými požiadavkami na žiadanú na vyšetrenia, návody na odber vzoriek, prípravu pacientov, požiadavky na kvalitu primárnej vzorky
- explicitné požiadavky na ŠPP
- biologické referenčné intervaly
- kritické hodnoty výsledkov vyšetrení
- oznamovanie výsledkov a výsledkový protokol
- etika s dôrazom na blaho pacienta
- bezpečnosť LIS a spracovania dát
- indikátory kvality príspevku laboratória v starostlivosti o pacienta

*Príklad:* ISO 15189 v článku 4.12.4 uvádza: „Manažment laboratória musí zaviesť indikátory kvality na systematické sledovanie a hodnotenie príspevku významnosti činnosti laboratória v starostlivosti o pacienta...“

Je možné napr. sledovať nasledovné Indikátory kvality:

- spokojnosť klientov – dotazník spokojnosti, sťažnosti
- kvalita výsledkov vyšetrení – výsledky IQC a EHK
- rozsah služieb – spektrum vykonávaných vyšetrení
- podiel akreditovaných vyšetrení zo všetkých vyšetrení
- čas trvania vyšetrenia

## 3. Akreditácia a certifikácia

V súčasnosti je na Slovensku viacero zdravotníckych zariadení, ktoré majú certifikovaný systém manažérstva kvality najčastejšie podľa STN ISO 9001:2001. Čo to v praxi znamená pre medicínske laboratórium, ktoré je súčasťou certifikovaného zdravotníckeho zariadenia?

Ak už zdravotnícke zariadenie prešlo certifikáciou do ktorej bolo zahrnuté i laboratórium, má trochu skúsenosti s tým o čo pri akreditácii asi pôjde. Ale len trochu, nie veľa. Toho čo potrebuje laboratórium splniť podľa akreditačných štandardov je omnoho viac. Certifikácia len čiastočne pokrýva potreby klinického laboratória zabezpečiť dôveryhodnosť výsledkov. Plusom však je, že bude lepšia spolupráca laboratória v prostredí zdravotníckeho zariadenia.

Žiaľ, dokumenty tvorené v rámci certifikácie sú pre potreby akreditácie nedostatočne využiteľné, lebo mnohé požiadavky STN EN ISO 15189:2007 nie sú tu dostatočne obsiahnuté. Ďalším problémom je, že laboratórium nemá priamu zodpovednosť za aktuálnosť dokumentov tvorených v materskom zdravotníckom zariadení v rámci certifikácie.

Opačná situácia, že laboratórium sa akredituje a potom prebehne certifikácia, je lepšia, lebo akreditačné materiály môžu byť plne implementované do systému manažérstva kvality podľa ISO 9000:2000 a tým bude zabezpečená lepšia kompatibilita oboch týchto systémov.

## 4. Poradenstvo

Poradenstvo špecificky orientované na budovanie SMK v medicínskych laboratóriách nemá u nás dlhú tradíciu. Vyvážené poradenstvo môže medicínskemu laboratóriu značne pomôcť vybudovať v primeranom čase funkčný systém manažérstva kvality. Na to však musí poskytovateľ poradenských služieb spĺňať určité požiadavky:

- mať reálne skúsenosti s budovaním a udržovaním SMK v medicínskom laboratóriu
- rozumieť práci medicínskeho laboratória a dobre poznať špecifiká rôznych druhov medicínskych laboratórií
- mať schopnosť dobre komunikovať s pracovníkmi laboratória pre získanie dostatočného vzájomného porozumenia
- byť schopný mať „individuálny prístup“ k laboratóriu
- pri implementácii normy vychádzať zo špecifik laboratória, tak, aby proces akreditácie neznamenal vtesnanie prevádzky laboratória do nejakej formálnej šablóny ale vytváral skutočne funkčný systém, ktorý efektívne zavedie systém manažérstva kvality
- poskytovať veľmi flexibilný prístup, ktorý podľa konkrétnych podmienok, danosti a možností laboratória umožní využiť vlastný potenciál laboratória pre efektívne zavedenie funkčného systému manažérstva kvality
- v procese prípravy na akreditáciu venovať dostatočnú pozornosť edukácii manažmentu tak, aby vedúci pracovníci, najmä manažér kvality dosiahol plné pochopenie a prijatie systému manažérstva kvality, aby mohol byť garantom jeho ďalšieho udržovania a rozvoja

- mať vysoko etický prístup, dodržiavajúci „etický kódex poradcu“
- prebrať zodpovednosť za úspešné privedenie laboratória k akreditácii, atď.

Je možné aj také „poradenstvo“, ktoré vychádza zo všeobecného poznania požiadaviek normy, z jej šablónovej aplikácie štýlom, že len tak to musí byť a laboratórium nech sa do toho vtesná.

Príklad poradenských služieb v systéme manažérstva kvality:

1. Organizovanie a lektorské zabezpečenie kurzov, školení a seminárov zameraných na problematiku prípravy pracoviska na zavedenie systému manažérstva kvality v zmysle normy STN EN ISO 15189:2007 (alebo STN EN ISO/IEC 17025:2005) v rozsahu potrebnom pre jednotlivé skupiny pracovníkov a aktuálnej potreby pracoviska.
2. Vykonanie vstupného auditu v laboratóriu a vypracovanie správy o rozsahu nevyhnutných činností na prípravu pracoviska akreditáciu podľa STN EN ISO 15189:2007.
3. Vypracovanie plánu a harmonogramu prípravy pracoviska na akreditáciu podľa STN EN ISO 15189:2007.
4. Poradenstvo pri príprave pracoviska na zavedenie systému manažérstva kvality v zmysle normy STN EN ISO 15189:2007, napr.:
  - a. posúdenie vhodnosti na pracovisku už vypracovaných a používaných dokumentov
  - b. návrh nových vzorových dokumentov
  - c. metrologické zabezpečenie vykonávaných činností
  - d. poradenstvo pri zavádzaní požiadaviek noriem do prevádzky laboratória a pod.
5. vypracovanie príručky kvality a príslušnej dokumentácie vyžadovanej v systéme manažérstva kvality v zmysle normy STN EN ISO 15189:2007.

Dokumentáciu tvorí:

- Príručka kvality
  - Interné predpisy (cca 30 rôznych interných predpisov na konkretizáciu jednotlivých činností)
  - Štandardné pracovné postupy spolu s Posúdením vhodnosti v počte podľa vykonávaných metód a výpočet neistôt a pod.
6. Vykonanie predbežného posúdenia pripravenosti pracoviska na akreditačný audit a návrh opatrení na zabezpečenie úspešnosti akreditačného auditu
  7. Zabezpečenie kompletného zavedenia systému manažérstva kvality v zmysle normy STN EN ISO 15189:2007 (zahŕňa bod 1 až 6) a taktiež všetkých činností potrebných na úspešné zavŕšenie akreditačného procesu počas a po akreditačnom audite vykonaným SNAS.
  8. Zabezpečenie vykonávania interných auditov systému manažérstva kvality.
  9. Vykonávanie funkcie manažéra kvality externe dodávateľským spôsobom (v prípade malého laboratória).

Služby podľa uvedených bodov môžu byť poskytnuté jednotlivito alebo kombinovane podľa požiadaviek objedná-

vajúceho pracoviska.

#### Postup v príprave klinického laboratória na akreditáciu

V závislosti od laboratóriom zvoleného druhu poradenských služieb, laboratórium obdrží plán vykonania zvolenej poradenskej služby.

Rámcovo pri príprave klinického laboratória na akreditáciu ide zo strany poradcu o postupné vykonanie nasledovných činností:

- školenie pracovníkov organizácie priamo na pracovisku tak, aby v svojom pracovnom zaradení boli schopní pochopiť, prijať a realizovať požiadavky systému manažérstva kvality
- podrobný audit všetkých činností, personálu, prístrojov, metód so zameraním na zistenie aktuálnej situácie a posúdenie toho ktoré prvky systému manažérstva kvality je potrebné upraviť, vytvoriť a zaviesť
- podrobný zoznam položiek činností, dokumentov alebo vecných prvkov a doporučený časový harmonogram nožnej realizácie jednotlivých prvkov systému manažérstva kvality
- vypracovanie návrhu Príručky kvality a príslušnej internej dokumentácie (Interných predpisov a Štandardných pracovných postupov) vyžadovanej v systéme manažérstva kvality v zmysle normy STN EN ISO 15189:2007
- oponovanie návrhu jednotlivými zodpovednými pracovníkmi a vypracovanie finálnej verzie Príručky kvality a príslušnej internej dokumentácie
- vypracovanie návrhov záznamovej dokumentácie
- oboznámenie pracovníkov s Príručkou kvality a príslušnou internou dokumentáciou a vedením záznamovej dokumentácie
- pomoc pri zavedení systému manažérstva kvality do každodennej činnosti laboratória
- vykonanie vzorového interného auditu všetkých prvkov systému manažérstva kvality
- vykonanie vzorového posúdenia manažmentom
- pomoc pri realizácii príslušných nápravných činností
- vykonanie posúdenia pripravenosti pracoviska na akreditačný audit a návrh opatrení na zabezpečenie úspešnosti akreditačného auditu
- vypracovanie a podanie žiadosti o akreditáciu na SNAS
- príprava materiálov požadovaných zo SNAS
- aktívna účasť poradcu na akreditačnom posudzovaní
- pomoc pri realizácii nápravných činností z akreditačného posudzovania

Doterajšie skúsenosti z poradenskej činnosti mi dovoľujú povedať, že pomoc poradcu medicínskemu laboratóriu umožňuje plne sa sústrediť na efektívne zavedenie funkčného SMK, využiť špecifiká laboratória, rýchlo odhaliť všetky rezervy pre reálne zvýšenie kvality a dôveryhodnosti služieb medicínskeho laboratória a s istotou požiadať akreditačný orgán SNAS o vykonanie akreditačného posudzovania.



## UDRŽOVANIE SYSTÉMU MANAŽÉRSTVA KVALITY

Udržovanie systému manažérstva kvality (SMK) po obdržaní osvedčenia o akreditácii môže byť nemenej náročné, ako samotná príprava akreditácie. Laboratórium je živý organizmus a v SMK podľa STN EN ISO 15189:2007 alebo STN EN ISO/IEC 17025:2005 sú obsiahnuté mechanizmy umožňujúce robiť nutné zmeny v SMK bez prerušenia platnosti osvedčenia o akreditácii. Samozrejme, že SMK nepodporuje náhodilé zmeny jednotlivých prvkov bez patričného ošetrovania v SMK. Z tohto hľadiska sa SMK môže javiť ako byrokratický. To je však len otázka nášho chápania kvality v jej komplexnosti a systémovosti.

Pre udržiavanie SMK je najdôležitejšie systematické a priebežné vykonávanie jednotlivých činností, tak ako ich požaduje zavedený SMK, t.j. aktualizácia materiálov, pravidelné a dôsledné vykonávanie interných auditov a preskúmaní manažmentom, riadenie nezhôd a nápravných činností, preventívne činnosti a sústavné zlepšovanie. Je potrebné priebežne a okamžite reagovať na všetky zmeny, ktoré v SMK nastali alebo nastanú podľa plánu. Plánovanie zmien dáva možnosť sa na ne adekvátne pripraviť a zväziť a zabezpečiť všetky potrebné opatrenia a nadväznosti. Tak bude SMK stále živý a laboratórium bude spôsobilé obstať v ročnom dohľade, ktorý vykonáva akreditačný orgán – SNAS.

## K DISKUSII O INDIKÁTOROCH KVALITY V LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKE

KOVÁČ GUSTÁV<sup>1</sup>, PORUBENOVÁ ANNA<sup>1</sup>  
BALLA JÁN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ÚSTAV CHÉMIE, KLINICKEJ BIOCHÉMIE  
A LABORATÓRNEJ MEDICÍNY, SLOVENSKÁ  
ZDRAVOTNÍCKA UNIVERZITA, BRATISLAVA

<sup>2</sup>ANALYTICKO-DIAGNOSTICKÉ  
LABORATÓRIUM s.r.o., PREŠOV

### ÚVOD

**Tradičný pohľad na kvalitu v laboratórnej diagnostike sa často prezentuje cez prizmu**

- parametrov kontroly kvality
- akreditačných štandardov
- certifikačných štandardov.

**Menej tradičný je pohľad cez prizmu ekonomiky, efektivity a efektivity. Veľmi zriedkavo sa myslí na kvalitu v súvislosti so všeobecnejšími a ťažšie definovateľnými kritériami týkajúcimi sa personálu, organizačnej štruktúry alebo organizačnej kultúry.**

**Do laboratórnej diagnostiky navyiac preniká biznis a komercia, ktorá prináša nový jazyk a požiadavky, čo sa premieňa do**

- organizačnej kultúry laboratória – požiadavky na zvládnutie technicko – ekonomickej univerzality ako aj polyvalentný prístup k laboratórnej diagnostike
- organizačnej štruktúry laboratória – maticová štruktúra organizácie s dôsledkami vyúsťujúcimi do poklesu lojality k medicínskym cieľom a dominciou ekonomických cieľov.

**Spoločný (samozrejme nie celkom presný) názov pre tento jav je: „corporate governance“. Kvalita (fenomén, ktorý sám o sebe reprezentuje veľkú dávku subjektivismu) tak predstavuje heterogénny pojem, ktorého obsah a interpretácia závisí na záujmoch a orientácii príslušného subjektu.**

### METÓDA

Diskusia o indikátoroch kvality v laboratórnej diagnostike sa točí okolo spektra názorov a tém, ktoré možno kategorizovať ako témy:

- zaoberajúce sa kvalitou predanalytickej, analytickej a postanalytickej fázy
- odrážajúce legislatívny rámec laboratórnej diagnostiky
- zohľadňujúce ekonomické a finančné prvky laboratórnej diagnostiky
- berúce do úvahy efektivitu a efektivitu laboratórnej diagnostiky.

Napriek ich heterogenite je ich možné s istou dávkou

aproximácie považovať za „tvrdú platformu“. Diskusie.

Existujú však témy, ktoré na strane jednej nemajú priamy vzťah ku kvalite, ale na strane druhej predsa len prispievajú hlavne k holistickému pohľadu na proces vyhodnocovania kvality u poskytovateľa laboratórnej diagnostiky. Tieto predstavujú „mäkkú platformu“ diskusie. Medzi ne patria napríklad:

- tradícia laboratória (medicínska či podnikateľská)
- hodnoty v laboratóriu (medicínske či monetárne)
- organizačná štruktúra (sieť, pyramída, matica, alebo klub)
- organizačná kultúra (procesy, postupy, vzťahy, politiky).

Do diskusie o kvalite v laboratórnej diagnostike, ktorá sa orientuje na výber jej indikátorov, treba brať do úvahy všetky témy – len tak je šanca dosiahnuť komplexný a výstižný pohľad.

## VÝSLEDKY

Proces diskusie o kvalite a jej indikátoroch vo svojich prvopočiatoch prebiehal na viacerých úrovniach – spočiatku v skupinách expertov, ktorí sa zaoberali problematikou kvality a akreditácií laboratórnej diagnostiky z dlhodobého hľadiska a každému zainteresovanému bolo jasné, že kvalita a akreditácia predstavujú predmet ich vedeckých záujmov a dlhodobú orientáciu, čo sa dá dokázať výsledkami ich práce, publikáciami a prednáškami.

S postupným objavovaním sa názorov, že kvalita a jej indikátory by mali ovplyvňovať úhrady poisťovní za laboratórnu diagnostiku, sa začali objavovať jedinci, ktorí sa najčastejšie angažovali cestou odborných spoločností alebo komôr, ktorí však v prevážnej väčšine nevedeli preukázať potrebnú úroveň odbornosti a skúsenosti, nehovoriac o výsledkoch alebo publikáciách v tejto oblasti.

S istou dávkou nadsádzky je možné hovoriť v tejto súvislosti o zmesi názorov „expertov“ a „laikov“, z ktorej sa vynárajú nasledovné pohľady na kvalitu laboratórnej diagnostiky a jej indikátory:

### Medicínska a analytická kvalita

je charakterizovaná kritériami, ktoré súvisia s kontrolou a zabezpečením kvality, ako sú napríklad

- neistota, bias
- analytická, biologická a celková variácia
- klinicky významný rozdiel.

V širšom kontexte je možné k ním priradiť ISO štandard pre akreditáciu a certifikáciu.

### Charakteristiky oddelenia laboratórnej diagnostiky

Parametre medicínskej a analytickej kvality by mali byť spájané s parametrami, ktoré charakterizujú činnosť medicínskeho laboratória z hľadiska „kvantitatívno-prevádzkovej stránky“ ako sú napríklad

- počet vyšetrení
- šírka spektra metódik
- analytická technika
- personál.

V tomto prípade však nejde o indikátory kvality, ale skôr o pomocné parametre vytvárajúce určitý základ pre potenciálne porovnanie oddelení.

### Kvalita vonkajšieho prostredia

Hoci kvalita vonkajšieho prostredia neodráža priamo kvalitu činnosti medicínskeho laboratória, nepochybné k nej v pozitívnom či negatívnom slova zmysle prispieva. Asi bude niečo na názore: môžete byť len tak dobrí, aké dobré je prostredie, v ktorom sa nachádzate. Kvalitu vonkajšieho prostredia charakterizuje napríklad úroveň a dodržiavanie kritérií týkajúcich sa vydávania licencií o odbornosti, hygiene a etike laboratória, ako aj v vzťahy a schopnosť spolupráce jednotlivých laboratórií vo veciach spoločného záujmu napriek vzájomným konkurenčným vzťahom.

### Ekonomika medicínskeho laboratória

Kvalitu „ekonomického výkonu“ medicínskeho laboratória by mohli vyjadrovať parametre ako

- náklady – na materiál, mzdy, odpisy, réžiu
- príjmy – od poisťovní alebo iných subjektov
- hospodársky výsledok za určité obdobie.

### Efektivita

Efektivita (účinnosť) je schopnosť laboratória dosahovať stanovené ciele – medicínske či ekonomické. Táto schopnosť veľmi úzko súvisí s organizačnými opatreniami a workflow analýzou. Vyjadruje ju napríklad úroveň

- automatizácie
- computerizácie
- integrácie
- konsolidácie

laboratórnej diagnostiky. V praxi ide o schopnosť usporiadať pracovné toky a procesy prevádzky laboratória tak, aby sa minimalizovali redundancie a rozhrania. To je základný predpoklad na dosiahnutie zvýšenej kvality výsledkov a znížených nákladov na laboratórnu diagnostiku.

### Eficiencia

Eficienciu (výkonnosť) laboratórnej diagnostiky možno charakterizovať ako schopnosť laboratória poskytovať maximálnu informáciu a kvalitu za čo možno najmenšej spotreby zdrojov. Preto je potrebné pri jej hodnotení brať do úvahy vzájomné väzby ako napríklad

- medicínskych parametrov kvality (neistota, bias, variácia)
- ekonomických parametrov kvality (náklady, príjmy, hospodársky výsledok, investície)
- kvantitatívnych charakteristík činnosti oddelenia laboratórnej diagnostiky (počty vyšetrení, metódik, personálu).

### Tradícia, hodnoty a politiky

Tradíciu medicínskeho laboratória vyjadruje vek a významné udalosti, ktoré ovplyvnili jeho činnosť počas doby jeho existencie (či už z hľadiska medicínskeho alebo ekonomického).

Medicínske hodnoty (úroveň odbornosti personálu) re-

flektujú napríklad

- publikácie
- citácie
- prednášky
- organizovanie odborných konferencií
- vydávanie časopisov.

Ekonomické hodnoty reflektujú parametre „zlomkovej analýzy“ (ratio analysis) ako napríklad

- návratnosť kapitálu
- návratnosť investícií
- likvidita
- solvencia.

Úroveň politik laboratória reflektuje napríklad

- systém vzdelávania
- pracovné náplne
- systém poradenstva
- systém manažérstva kvality.

## DISKUSIA

Rôznorodosť pohľadov na rozličné aspekty kvality laboratórnej diagnostiky vyvoláva samozrejme rad otázok a pochybností:

Sú jednotlivé vyššie uvedené pohľady na kvalitu laboratórnej diagnostiky adekvátne ?

Ak áno, aké je ich najvhodnejšie usporiadanie (hierarchia) s ohľadom na dosiahnutie komplexného a optimálneho obrazu vystihujúceho kvalitu laboratórnej diagnostiky? Z tohto aspektu je zaujímavé skúmať priemet medicínskych a ekonomických cieľov laboratória do jeho kultúry a štruktúry.

### Stret medicínskej a finančnej kultúry

Stret medzi medicínskymi cieľmi a finančnými záujmami existoval, existuje a bude existovať. Vždy však záležalo na vonkajších okolnostiach (legislatívnom rámci a politike) či a aký aspekt bude prevládať.

Skúsenosti z dávnej minulosti ukazujú, že absolútna dominancia medicínskych cieľov vedie v konečnom dôsledku znižuje úroveň kvality laboratórnej diagnostiky, lebo sa neřešpektuje ekonomická realita.

Skúsenosti z nedávnej minulosti naopak ukazujú, že dominancia finančných záujmov vedie v konečnom dôsledku ku znižovaniu úrovne kvality laboratórnej diagnostiky bagatelizáciou a nezohľadňovaním základných medicínskych predpokladov a podmienok pre laboratórnu diagnostiku.

Našou pridanou hodnotou by mal byť pokus o premostenie a dosiahnutie rovnováhy medzi oboma protichodnými aspektmi. To by sa malo premietnuť do požiadaviek na klasifikáciu, monitorovanie a vyhodnocovanie kvality laboratórnej diagnostiky. Navyiac by to malo napomôcť k vizualizácii komplexnej siete faktorov, z ktorých sa budú vyberať budúci kandidáti na najvhodnejšie indikátory kvality.

### Organizačná štruktúra, medicínske ciele a finančné záujmy

Z vyššie uvedeného pohľadu isté riešenie by mohol predstavovať maticový model organizačnej štruktúry, ktorý do značnej miery vystihuje rámec, z ktorého môže vzniknúť prostredie zabezpečujúce rovnováhu medzi medicínskymi potrebami (medicínskou zodpovednosťou) a každodennou prevádzkou a záujmami biznisu a financií (zodpovednosťou za dosahovanie ekonomických výsledkov).

Manažment oddelenia laboratórnej diagnostiky musí brať do úvahy oba aspekty laboratórnej diagnostiky. To sa musí odraziť v jeho medicínskych a ekonomických kompetenciách. V konkrétnom prípade sa to premietne do organizačnej štruktúry oddelenia nasledovne:

- výkonné (realizačné) aspekty laboratórnej diagnostiky sa premietajú do prvého stĺpca vertikály matice: ide o technicko realizačné kompetencie a zodpovednosť za prevádzku a chod jednotlivých laboratórií bez ohľadu na jednotlivé špecializácie (vedúci prevádzky a vedúci laboratórií)
- zodpovednosť za medicínske výstupy sa premieta do prvej časti horizontály matice a zodpovednosť za ich kvalitu, validáciu interpretáciu a komplexné hodnotenie nesie medicínsky riaditeľ (garanti za biochémiu, hematológiu, imunológiu, mikrobiológiu, vzdelávanie a ich komplexné hodnotenie - laboratórna medicína)
- zodpovednosť za výstupy týkajúce sa ekonomiky a biznisu (marketing, bezpečnosť, ekonomika, biznis, administratíva, materiál a podporné činnosti) sa premieta do druhej časti horizontály matice a zodpovedá za ňu výkonný riaditeľ.

Obr. 1: Maticová štruktúra oddelenia laboratórnej medicíny

Vedúci prevádzky	Medicínsky riaditeľ					Výkonný riaditeľ				
	Klinická účinnosť	Informačný a štruktúrny	Rizik. kontrola	Rizik. kontrola	Vzdelávacia úloha	Personál a materiál	Personál a mzdy	Ekonomika a finančné	Materiál a služby	
Prijím a predávať										
Radiácia										
Špeciálna úloha										
Bakteriologické										
Molekul. Cytogenetika										
Flow cytometry										
Mikrobiológia										
Infekcie HB a HIV										
ambulantne										

Obr. 1: Maticová štruktúra oddelenia laboratórnej diagnostiky

## ZÁVERY

Priebeh diskusie a z nej vyplývajúce názory na kvalitu laboratórnej diagnostiky a jej najvhodnejšie indikátory odráža heterogenitu záujmov a orientácií jednotlivých hráčov a záujmových skupín. V žiadnom prípade však nemožno prehliadnúť skutočnosť, že laboratórnu diagnostiku determinujú dva aspekty: medicínsky a ekonomický.

Ak sa má dosiahnuť realistický, pravdivý a konsenzuálny pohľad na kvalitu laboratórnej diagnostiky, tento musí nevyhnutne reflektovať vyššie uvedenú rôznorodosť. Indikátory kvality by preto mali

- vychádzať z výsledkov a údajov o
  - IQA, EQA
  - akreditácii
  - licenciách
  - hospodárskom výsledku.
- Naviac by mohli zahŕňať kvantitatívne údaje ako
  - počet vyšetrení, metodík, personálu, investície
  - počet publikácií citácií, prednášok
  - organizačnú schému
  - zoznam politik a postupov.
- Prípadne by mohli byť doplnené o
  - popis stupňa polyvalencie činnosti
  - popis významných udalostí a histórie oddelenia.

## DOPORUČENIA

Indikátory kvality je možné budovať na systéme, ktorý

- vychádza zo základných údajov ako sú
  - počet vyšetrení
  - počet metodík
  - počet personálu.
- Obsahuje medicínske ukazovatele ako
  - certifikáty
  - výsledky EQA
  - výsledky akreditačných auditov.
- Informuje o ekonomických údajoch ako
  - náklady
  - výnosy
  - hospodársky výsledok.
- Zahŕňa parametre analytickej výkonnosti, ako napríklad
  - percento metodológií vyhovujúcich kritériám EQA
  - percento akreditovaných metodológií.
- Zahŕňa parametre ekonomickej výkonnosti ako napríklad
  - ROI
  - ROCE
  - AUR
- Zahŕňa parametre účinnosti (pomery) ako napríklad
  - náklady/počet zamestnancov, vyšetrení, metodík
  - príjmy/počet zamestnancov, vyšetrení, metodík
  - hospodársky výsledok/ počet zamestnancov, vyšetrení, metodík
- a naviac obsahuje doplňujúce informácie ako
  - organizačnú štruktúru (organigram)
  - zoznam politik
  - popis úrovne polyvalencie
  - popis histórie a významných udalostí.

## POZNÁMKA

Za žiadnych okolností však nedoporučujeme, aby sa indikátory kvality zavádzali bez prípravy a celoplošne. Malo by sa začať (bez dlhých diskusií) v malom (niekoľko malých

pilotných štúdií) a v prípade dobrých skúseností sa pokúsiť o ich extenziu na širšie okolie.

## LITERATÚRA

1. Kováč, G., Balla, J.: Ciele a cieľové hodnoty v laboratórnej medicíne, *Lab. diag.*, 9, 1, 2004, 19.
2. Špaček, L., Kováč, G.: Prvé akreditované klinické laboratórium po troch rokoch, *Lab. diag.* 9, 1, 2004, 31–32.
3. Kováč, G., Ochtinský, J., Móricaová, Š., Hladík, M.: Economy of Laboratory diagnostics pre and after Consolidation, *Lab. diag.*, 9, 1, 2004, 42.
4. Kovac, G., Spacek, L., Schmidtova, K., Mosendzova, B., Pereckova, J., Illek, B.: Accreditation costs of the Department of Clinical Chemistry of the Derer University Hospital in Bratislava Slovakia, *Proceedings from Quality in Spotlight 2003*, Antwerpen, 14, 2003.
5. Kovac, G., Goldschmidt, H.: Application of quality evaluation indications to monitor effects of a major laboratory change-over, *Clin. Chem.* 2003, 49, 6S, A 18.
6. Kováč, G.: EFQM for TQM: totálny manažment kvality podľa modelu Európskej nadácie pre manažment kvality, *Lab. diag.*, 2003, 7, 2–3, 46–49.
7. Kováč, G., Hladík, M., Pavlík, M., Móricaová, Š., Urge, O., Schmidtová, K., Krčmáriková, J., Geličňová, J., Urge, O., Mistríková, A., Porubenová, A.: Hodnotenie procesu integrácie a konsolidácie laboratórnej diagnostiky vo FNsPaLD v Bratislave pomocou modelu EFQM, *Lab. diag.*, 2003, 7, 2–3, 50–55.
8. Kovac, G., Spacek, L., Hladik, M., Moricova, S., Porubanova, A., Bartko, D.: Accreditation Costs of the Department of Laboratory Medicine in University Hospital Clin Chem Lab Med, 2003, 41, S 18.
9. Kováč, G., Hladík, M., Móricaová, Š., Uerge, O.: EFQM model v hodnotení efektivity proces integrácie a konsolidácie laboratórnej diagnostiky vo FNŠP a LD, *Lab. diag.*, 2003, 7, 1, 64.
10. Kováč, G., Goldschmidt, H., Hyltoft-Petersen, P.: Neistota, nadvaznosť, komutabilita a CE logo v laboratórnej diagnostike – skúsenosti z medzinárodnej konferencie Quality in Spotlight v Antwerpách, *Lab. diag.*, 2003, 7, 1, 21.
11. Kováč, G., Kairisto, V., Illek, B., Špaček, L., Halický, P., Mistríková, E., Černá, K., Svobodová, A.: Čo sa urobilo v oblasti kvality postanalytickej fázy vo FnsPaLD, *Lab. diag.*, 2003, 7, 1, 65.
12. Kováč, G., Hladík, M., Pavlík, M., Móricaová, Š., Urge, O., Schmidtová, K., Krčmáriková, J., Geličňová, J., Mistríková, E., Porubenová, A.: Pokus o stanovenie nákladov na akreditáciu kliniky biochémie, *Lab. diag.*, 2003, 7, 2–3, 59–62.
13. Špaček, L., Kováč, G.: Akreditácia klinického laboratória – príprava, prínos, priebeh. *Lab. diag.*, 2003, 7, 2–3, 45.
14. Balla, J., Kováč, G.: SEHK – Slovenské externé hodnotenie kvality, *Lab. diag.*, 9, 1, 2004, 10.
15. Kováč, G.: Manažment v laboratórnej medicíne, Bratislava 2005, 147 strán, Herba, Bratislava.

---

## NEDOSTUPNÁ DOSTUPNOST

---

LEPEJ JÁN<sup>1</sup>, RÁCZ OLIVER<sup>2</sup>, SEČNÍK PETER<sup>3</sup>

<sup>1</sup>INŠTITÚT NUKLEÁRNEJ  
A MOLEKULOVEJ MEDICÍNY, KOŠICE  
<sup>2</sup>LEKÁRSKA FAKULTA  
UNIVERZITY P. J. ŠAFÁRIKA, KOŠICE  
<sup>3</sup>SK-LAB S.R.O.  
KLINICKÉ LABORATÓRIUM, LUČENEC

### OSNOVA

- Definícia dostupnosti v zdravotnej starostlivosti – dá sa dostupnosť zdravotníckej starostlivosti objektívne merať?
- Sú existujúce štatistické ukazovatele postačujúce na hodnotenie, dostupnosti alebo potrebujeme aj iné ?
- Prečo existuje len relatívna dostupnosť v systéme zdravotnej starostlivosti?
- Dostupnosť a problémy logistiky – geografické a demografické ukazovatele v SR.
- Vzťah kvalita versus dostupnosť - ak je nejaká služba dostupná, ešte nemusí byť kvalitná.
- Dostupnosť a náklady na zdravotnú starostlivosť. Kto sa má akým dielom na nej podieľať – verejný sektor, súkromný sektor, poisťovne, pacient.
- Dostupnosť a vyvolané náklady na strane pacienta – konkrétne príklady u niektorých typov služieb – drahé výkony (vyvolané nedostatkové služby).
- Realita v dostupnosti zdravotnej starostlivosti a plánované zmeny v minimálnej sieti.
- Nedostupnosť vyvolaná nesprávnym ohodnotením výkonov.
- Vplyv zdravotných poisťovní na dostupnosť - Vyžadovanie nepotrebných dostupnosti a zámerné znižovanie dostupnosti, nezaradenie nových výkonov.
- Vplyv zdravotníckych zariadení na dostupnosť a preanalytická fáza v laboratórnej diagnostike.
- Dostupnosť a pôsobenie „trhu v zdravotníctve“.
- Ako zdostupniť dostupnosť?

---

## CÍLE A DOSAVADNÍ PŮSOBNÍ NÁRODNÍHO AUTORIZAČNÍHO STŘEDISKA PRO KLINICKÉ LABORATOŘE ČLS JEP (NASKL)

---

JABOR ANTONÍN

INSTITUT KLINICKÉ A EXPERIMENTÁLNÍ  
MEDICÍNY, PRAHA, ČESKÁ REPUBLIKA

### ÚVOD

Národní autorizační středisko pro klinické laboratoře (NASKL) je orgán ČLS JEP, jehož misí je příspěvek ke kvalitní zdravotní péči, prováděný formou edukační a autori-

zační činnosti. Důraz je kladen na trvalé zlepšování práce klinických laboratoří. NASKL v odborné činnosti podléhá metodickému vedení Rady pro akreditaci klinických laboratoří, která je stálým poradním orgánem předsednictva ČLS JEP.

### Národní akreditační standardy

NASKL při své práci využívá Národní akreditační standardy s navazujícími dokumenty vycházejících z konsensu s laboratorní složkou (ve struktuře standard, odkaz na znění normy 15189, odborný výklad, požadavky auditu I, požadavky auditu II, pokyny pro posuzovatele, další údaje).

### Registrace

Výchozím bodem spolupráce mezi klinickou laboratoří (KL) a NASKL je registrace v Registru klinických laboratoří. Nově registrovaná KL získává přehledné a srozumitelné pokyny pro svou další činnost v oblasti zvyšování kvality a poskytování služeb (základní písemný materiál pro nově registrované laboratoře, základní návod prvních kroků pro postupné zavádění prvků jakosti a pro případnou přípravu k auditu I ve formě srozumitelného manuálu).

### Audity

NASKL nabízí provedení auditu I a II. Audit I je edukační nástroj, ve kterém dochází k základnímu porovnání úrovně nastavené v laboratoři a úrovně vyžadované skupinou erudovaných posuzovatelů, audit II je nástroj pro posouzení efektivity procesu kontinuálního zvyšování kvality ve spolupráci s NASKL. Edukační charakter auditů bude podpořen dalšími službami (například nabídka přípravy na audit I formou vnitřního auditu, poradenské návštěvy, konzultace na místě, semináře pro registrované laboratoře, semináře pro posuzovatele a podobně).

### Informace

Základním informačním nástrojem je webová stránka NASKL ([www.naskl.cz](http://www.naskl.cz)), připravované změny se týkají přístupu pod heslem pro auditory (zkušenosti z auditů, případové studie, výklady speciálních situací), pro registrované laboratoře a pro laboratoře s absolvovaným auditem.

### Závěr

NASKL je samostatným útvarem České lékařské společnosti, jehož ambicí je plošné provádění edukační a poradenské činnosti v celé šíři klinických laboratorních oborů, pro zajištění procesu zvyšování kvality práce klinických laboratoří, pro přípravu k akreditaci a pro ověřování kvality práce klinických laboratoří v rámci Registru klinických laboratoří. NASKL ve spolupráci s Radou pro akreditaci za 3 roky své existence prokázal oprávněnost zvolených principů a je významnou mezioborovou platformou svébytných klinických laboratorních oborů.

---

## INTERNÉ AUDITY A ZABEZPEČENIE KVALITY Z POHLADU NORIEM PRE KOMPETENTNOSŤ KLINICKÝCH LABORATÓRIÍ

---

CZOCHER TIBOR

SLOVENSKÁ NÁRODNÁ AKREDITAČNÁ SLUŽBA  
BRATISLAVA

Systémy manažérstva, ktoré v sebe zahŕňajú okrem iného systémy manažérstva kvality a systémy odborných činností a ktoré sú vhodné pre medicínske alebo klinické laboratória vykonávajúce skúšky, analýzy alebo vyšetrenia materiálov odobraných z ľudského organizmu sú všeobecne známe a celosvetovo používané. Jedná sa buď o systémy manažérstva budované podľa požiadaviek normy všeobecnejšieho charakteru ISO/IEC 17025: 2005 „Všeobecné požiadavky na kompetentnosť skúšobných a kalibračných laboratórií alebo podľa požiadaviek špecifickejšej normy ISO 15189: 2007 „Medicínske laboratória. Špecifické požiadavky na kvalitu a kompetentnosť“. Tieto normy sú predovšetkým určené pre laboratória, ale aj pre organizácie zainteresované na činnosti laboratórií alebo využívajúce ich služby, ako aj pre organizácie posudzujúce a potvrdzujúce kompetentnosť laboratórií (akreditácia laboratórií). Obidve spomenuté normy nie sú určené pre účely certifikácie. Na nadnárodnej alebo na národných úrovniach môžu existovať aj iné normy alebo predpisy, ktoré uvádzajú požiadavky na systémy manažérstva v laboratóriách, avšak tieto by nemali byť považované za základné normy pre kompetentnosť laboratórií, ale ako dokumenty spresňujúce požiadavky vyššie uvedených základných noriem.

V odbornej verejnosti sa neustále diskutuje porovnateľnosť systémov manažérstva budovaných podľa noriem ISO/IEC 17025: 2005 a ISO 15189: 2007, ako aj výklad niektorých ustanovení týchto noriem, ktoré sú z dôvodov širšieho záberu formulované všeobecnejšie. Rôzny výklad často vedie k nekompatibilitě v rámci jedného typu systémov alebo medzi systémami, plneniu požiadaviek na rôznej úrovni a v neposlednom rade ku konštatovaniu nezhôd v systéme a odborných činnostiach zo strany orgánov potvrdzujúcich kompetentnosť.

Všeobecne sa dá konštatovať, že normy uvádzajú požiadavky, ktoré sú do značnej miery zosúladené, ale aj napriek tejto skutočnosti a aj napriek tomu, že aktualizácia ISO 15189: 2007 bola vykonaná z dôvodu zharmonizovania najmä s normou ISO/IEC 17025: 2005, vyskytujú sa v nich ustanovenia, ktoré môžu byť interpretované a v praxi realizované tak, že požiadavky sú po kvalitatívnej stránke plnené značne rozdielne.

Z dlhodobej praxe v oblasti posudzovania systémov manažérstva je možno konštatovať množstvo nedostatkov, ktoré sa v rámci laboratórií opakovane vyskytujú, najmä pri prvých posúdeniach zo strany nezávislého a nestranného orgánu posudzujúceho kompetentnosť. Príkladom z oblasti požiadaviek na manažment a odborných požia-

daviek, ktoré sú v normách miene odlišné sú interné audity a zabezpečenie kvality výsledkov skúšok alebo vyšetrení. Všeobecne pre zabezpečenie porovnateľnosti systémov je potrebné zachovať nasledovné princípy:

- v oblasti interných auditov
  - mať dokumentované postupy pre plánovanie, vykonávanie a vyhodnotenie auditov, aké záznamy sa z nich vedú, ako sa postupuje pri zistení nedostatku, pri prijímaní a vyhodnotení nápravných a preventívnych činností súvisiacich s auditmi,
  - mať osobu (manažéra kvality), ktorá je zodpovedná za plánovanie a organizáciu interných auditov,
  - mať vyškolených a kvalifikovaných interných auditorov, auditujúcich činnosti, na ktorých sú nezávislí (ktoré sami nevykonávajú),
  - mať spracovaný a schválený harmonogram interných auditov tak, aby v priebehu 12 mesiacov sa auditovali všetky prvky systému manažérstva, pričom dôraz má byť najmä na oblasti súvisiace kritické pre starostlivosť o pacienta (vykonali sa horizontálne, vertikálne audity a pozorovanie výkonu odborných činností),
  - nevykonávať interné audity len pre deklarovanie plnenia požiadaviek normy pre zákazníkov a orgány potvrdzujúce kompetentnosť ale vykonávať ich neformálne s cieľom skutočného preverenia účinnosti a efektívnosti systému a jeho zlepšenia.
- v oblasti zabezpečenia kvality výsledkov skúšok alebo vyšetrení
  - mať dokumentované postupy a frekvenciu sledovania kvality výsledkov konkrétne vykonávaných skúšok alebo vyšetrení (referenčné materiály, medzilaboratórne testy, opakované analýzy, korelácie výsledkov, atď.) a aké záznamy sa z tohto sledovania vedú,
  - zaznamenávať výsledky zo systému zabezpečenia kvality tak, aby bolo možné identifikovať prípadné trendy,
  - na hodnotenie výsledkov používať vhodné štatistické metódy,
  - mať jasne definované kritériá prostredníctvom klinicky vhodných intervalov pre každý typ sledovania platnosti výsledkov skúšok alebo vyšetrení a dokumentovať aké nápravné alebo preventívne činnosti sa vykonajú v prípade identifikácie problémov alebo trendov,
  - zabezpečiť stopovateľnosť výsledkov skúšok/analýz/vyšetrení na dôkazy o ich platnosti a správnosti vrátane nadväznosti na jednotky SI alebo iné akceptovateľné alebo dohodnuté etalóny/standardy

---

## INDIKÁTORY ANALYTICKÉ KVALITY V KLINICKÝCH LABORATOŘÍCH

---

FRIEDECKÝ BEDŘICH  
KRATOCHVÍLA JOZEF, BUDINA MAREK

SEKK PARDUBICE, ČESKÁ REPUBLIKA

Indikátory kvality by měly být kvantitativně měřitelné a vyhodnotitelné srovnáním se stanovenými kritérii. Vycházíme-li z akreditačních norem kvality ISO 17025 a zejména ISO 15189, zjistíme, že zajištění analytické kvality měření je založeno na následujících požadavcích:

- fungování systému vnitřní kontroly kvality
- monitorování hodnot systematických diferencí
- účast laboratoří v programech EHK, které musí mít definována kritéria požadované kvality

Tyto požadavky je možné kvantifikovat údaji o přesnosti, bias/vychýlení, celkové chyby měření a cílové nejistoty (kontrolních limitů) měření. Právě tyto parametry je možné považovat za indikátory analytické kvality měření.

Systém vnitřní kontroly kvality poskytuje data mezilehlé přesnosti (intermediate precision). Tato data jsou korektním ukazatelem náhodné chyby měření a mohou být použita k odhadu nejistot výsledků měření. Data mezilehlé přesnosti je nezbytné korigovat vyloučením odlehlých výsledků měření s použitím některých Westgardových pravidel (za úvahu stojí především pravidla 12s a R4s). Stanovení kritérií přesnosti je problematické, protože.

- odvození z biologických variabilit je použitelné jen v některých případech
- údaje výrobců, které by měly být vnitřní kontrolou verifikovány jsou často podhodnocené (jde často o krátkodobou přesnost typu „within-run“).

Hodnoty systematických odchylek lze monitorovat analýzou referenčních materiálů, používaných ve vnitřní kontrole nebo externím hodnocení kvality. Data z externího hodnocení kvality je vhodné preferovat. Jsou rozhodně blíže metrologickému pojetí vztažných/cílových hodnot referenčních materiálů, než data vnitřní kontroly kvality. Hodnoty bias, které lze z nich stanovit, mají blíže realitě. Riziko matricových vlivů může být minimalizováno prokázáním komutability a/nebo použitím průměrů výsledků měření.

Kritérii požadované kvality v programech EHK jsou kontrolní limity, v soudobé metrologické terminologii označované pojmem cílové hodnoty nejistoty (TMU). Význam tohoto indikátoru kvality je klíčový, nicméně hodnoty se v různých programech EHK velmi odlišují (i trojnásobně).

K realistickému ustanovení požadovaných hodnot indikátorů se jeví velmi nadějně přístup Six Sigma. Je založen na existenci jednoduchých matematických vztahů mezi přesností, vychýlením a cílovou hodnotou nejistoty. Hodnoty sigma přímo kvantifikují počet chybných měře-

ní (DPM-defects per million). Lze tedy s jejich pomocí predikovat počet chybných měření právě v závislosti na uvedených indikátorech kvality a také sledovat závislosti mezi hodnotami těchto indikátorů. Hodnoty sigma také jednoduchým způsobem kvantifikují měřicí schopnost laboratoře a z požadavků na ni lze odvodit potřebné hodnoty přesnosti a vychýlení s doposud nedosaženou mírou exaktnosti.

---

## KOMPLEXNOST A KVALITA – POHLAD NA INDIKÁTORY KVALITY PRE KLINICKÉ LABORATÓRIÁ

---

KAPALLA MARKO

INŠTITÚT LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKY,  
ALPHA MEDICAL A.S., RUŽOMBEROK

Téma indikátorov kvality pre klinické laboratóriá rezonuje na Slovensku už viac ako rok. Doteraz sa však nedospelo ku všeobecne prijateľnému riešeniu resp. konceptu, na základe ktorého by bolo možné takéto indikátory kvality definovať a zmysluplne a ku prospechu pacienta aj používať. Jedným z problémov je aj fakt, že chýba jasne definovaný cieľ zavedenia takýchto indikátorov a definovanie profilu „ideálneho“ laboratória resp. takého profilu, ku ktorému by sa mali všetky laboratóriá v Slovenskej republike maximálne priblížiť.

Dobrý základ pre komplexný pohľad na kvalitu a jej posudzovanie predstavuje medzinárodná norma ISO 15 189, ktorá sa snaží definovať štandard kvality s ohľadom na pacienta a jeho potreby.

Kvalitu, ako vlastnosť, nemôžeme v laboratórnej diagnostike redukovať na vybrané zložky a chápať ju iba v zmysle analytickej kvality presnosti a správnosti výsledkov, ale definovať ju v celej šírke vzájomných vzťahov, ktoré tvoria zdravotnú starostlivosť. Potenciálne indikátory kvality by mali túto komplexnosť pohľadu na kvalitu jednoznačne odrážať a ich zavedenie do praxe by mal pocítiť predovšetkým pacient a ošetrojúci personál. Za potenciálne indikátory kvality, o ktorých je potrebné diskutovať môžeme považovať nasledujúce:

- Akreditácia laboratória
- Analytická kvalita vo vyjadrení chyby resp. neistoty merania pre každé relevantné vyšetrenie (vyžaduje sa však dohoda resp. zhoda odborníkov)
- Spektrum vyšetrení, ich dostupnosť a čas odozvy
- Podiel vykazovaných akreditovaných výkonov
- Personálne zázemie pre odborné vedenie pre jednotlivé odbory a dokladovateľné kontinuálne vzdelávanie
- Účast v cykloch externej kontroly kvality na poskytované vyšetrenia
- Zavedený a vyhodnocovaný systém internej kontroly kvality

- Schopnosť zabezpečiť maximálnu možnú kontrolu nad predanalytickou fázou už od momentu odberu v ambulancii resp. pri lôžku pacienta
- Kvalita a dostupnosť všetkých informácií o poskytovateľovi prostredníctvom webového rozhrania. Dostupnosť potrebných dokumentov (napr. laboratórne minimum, zoznamy vyšetrení, ref. hodnoty, oznameny, tel. čísla, zodpovednosti, certifikáty, kontinuálne vzdelávanie, primerané odborné texty dostupné pre pacienta o jednotlivých vyšetreniach, a pod.)
- Dostupnosť histórie výsledkov pre daného pacienta od jeho prvého vyšetrenia u daného poskytovateľa, t.j. kvalita uchovávaní laboratórnych vyšetrení v databázach. Dostupnosť tejto histórie cez webové rozhranie 24 hodín denne.
- Poskytovanie služieb s pridanou hodnotou (napr. kumulatívne výsledky, štatistiky, rozpočtovanie lekárov, expertné systémy).
- Jednoduchosť revízie kontroly na základe kvality laboratórnych informačných systémov.
- Komentovanie výsledkov, doporučenia, interpretácie.
- Obsahová a grafická stránka výsledkového listu, čitateľnosť, trvácnosť.
- Spokojnosť ordinujúcich lekárov a pacientov, vyhodnocovaná na základe anonymného dotazníka, ktorý vyhodnotí ZP.
- Počet relevantných sťažností na nekvalitnú prácu.
- Vedecká, publikačná a edukačná činnosť poskytovateľa.
- Ponúkaná cena za vyšetrenia.

Na druhej strane si však musíme byť vedomí, že zavedenie indikátorov kvality len pre laboratóriá situáciu v zdravotnej starostlivosti výrazne nezlepší. Potrebné je komplexne hodnotiť aj kvalitu jednotlivých ambulancií a oddelení, pretože nekvalita tam výrazne znehodnocuje akúkoľvek snahu o kvalitu v laboratóriu. Na záver je tiež potrebné jednoznačne povedať, že hodnotenie komplexnosti a kvality práce na úrovni riadenia celého zdravotníctva v Slovenskej republike je téma na osobitnú a veľmi dlhú diskusiu.

---

## VÝSLEDKY ŠTÚDIE DEPAC- SÚČASNÝ STAV SLOVENSKEJ DIABETOLÓGIE

---

MICHÁLEK JOZEF

NÁRODNÝ ENDOKRINOLOGICKÝ ÚSTAV  
LUBOCHŇA

V priebehu roku 2004 vzniklo v Bruseli združenie DE-PAC (Diabetes Experts Panel of Accesing Countries) zložené zo zástupcov novoprijatých krajín EÚ (Česko, Poľsko, Slovensko, Maďarsko, Slovinsko, Litva, Estónsko, Lotyšsko, Cyprus a Malta) s cieľom koordinovať spoločné postupy v starostlivosti o diabetes. Jedným z prvých výsledkov bolo uskutočnenie prierezovej štúdie, mapujúcej momentálny stav diabetológie v jednotlivých krajinách (okrem Cypru

a Malty). Štúdia bola uskutočnená v prvých 6 týždňoch roku 2005.

Na Slovensku prebehla v 11 centrách a zahrňovala celkovo 1100 pacientov s DM.

*Výsledky:* z počtu 1100 pacientov bolo 55 % žien a 45 % mužov v priemernom veku 58,7 r., Trvanie DM priemerne 11,1 r., priemerná hmotnosť: 82,7 kg, priemerná výška: 167,5 cm. Diagnostikovaný DM1 u 12 %, DM2 u 85 %. Priemerná hodnota HbA1C v súbore bola 7,6 %, hodnoty pod 6,1 % dosiahlo 15 % pacientov, do 7 % dosiahlo 36 % pacientov. Vynikajúco kompenzovaných bolo 22 %, vyhovujúco 28 %, nevyhovujúco 12,7 % a zle kompenzovaných 35 % pacientov. Z hľadiska liečby OAD bolo 45 % liečených metformínom, 38 % derivátmi sulfonylurey, glinidmi 3 %, tiazolidindionmi 1,6 % a akarbózou 3,8 %. Kombinovanú liečbu PAD + inzulín dostávalo 3,8 %. Inzulínovými pumpami bolo liečených 0,36 % pacientov. Selfmonitoring glykémii vykonávalo 49 % a nevykonávalo 46 % pacientov. Priemerná denná dávka inzulínu bola 47,6 j.

Z hľadiska chronických komplikácií IM prekonalo 9 % pacientov a rôznymi formami ICHS trpelo 21 %. Nefropatia s pozitívnou mikroalbuminúriou bola zistená u 20 %, s proteinúriou u 14,1 %, v štádiu chronickej renálnej insuficiencie bolo 3,3 % pacientov. Retinopatia bola zistená: neproliferatívna u 29 %, proliferatívna u 5,1 %, makulopatia u 1,3 % a faktická slepota u 0,1 % pacientov. Diabetická noha s ulkusom u 3,9 %, s amputáciou pod Chopartom u 1,5 %, nad Chopartom u 0,8 %. Z hľadiska akútnych komplikácií výskyt závažnej hypoglykémie bol v súbore 1,9 %, hypertonické kóma v 0,09 % a ketoacidóza u 0,2 % pacientov.

Aj keď je možné, že výsledky sú zaťažené istou štatistickou chybou, predsa len poskytujú cenné údaje pre prijatie strategických opatrení v odbore.

---

## DIAGNOSTIKA DIABETES MELLITUS U DOPELÝCH A DIAGNOSTIKA GESTAČNÉHO DIABETES MELLITUS

---

FRANEKOVÁ JANA

INSTITUT KLINICKÉ A EXPERIMENTÁLNEJ MEDICÍNY, PRACOVISŤE LABORATORNÍCH METOD, PRAHA. ÚSTAV KLINICKÉ BIOCHEMIE, FAKULTNÍ NEMOCNICE OSTRAVA  
ČESKÁ REPUBLIKA

### International Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus – 1997

V roku 1997 International Expert Committee upravila diagnostické kritéria pre diabetes mellitus (DM).

1. Doporučuje používať na diagnostiku diabetu koncentráciu glukózy v plazme žilnej krvi nalačno (FPG).
2. Cut-off hodnota pre diskrimináciu diabetikov od „nediabetikov“ sa posúva zo 7,8 mmol/l na 7,0 mmol/l. Dôvod: Zvýšená prevalencia a incidencia diabetickéj



retinopatie od koncentrácie glukózy nad 7.0 mmol/l, redukcia diskrepancie medzi výsledkom FPG a koncentrácie glukózy v plazme žilnej krvi po dvoch hodinách od záťaže behom orálneho glukózového tolerančného testu (oGTT)

3. Za normálnu FPG sa považuje koncentrácia nižšia ako 6.1 mmol/l. Limit pre normálnu FPG je stanovený ako 95. percentil „zdravej“ populácie.
  4. Definovaná je porušená glukóza nalačno (IFG) – stav medzi „normál“ a „diabetes“ (kategória nalačno kompatibilná s IGT po záťaži). Identifikuje jedincov s vyšším rizikom.
  5. OGTT je považovaný za validný postup pre diagnózu DM ale s horšou reprodukovateľnosťou a vyššou cenou v porovnaní s FPG.
  6. Porušená glukózová tolerancia (IGT) – koncentrácia glukózy v plazme žilnej krvi nalačno pod 7.0 mmol/l, dve hodiny po záťaži počas oGTT 7,8 – 1,0 mmol.l<sup>-1</sup>.
  7. HbA1C zatiaľ nie je doporučený k diagnostike DM.
- Bod č.3 je predmetom diskusie (viz ďalší text), ostatné body zostali v platnosti

### **Follow-up Report on the Diagnosis of Diabetes mellitus – 2003**

V Diabetes Care v roku 2003 je publikovaný skupinou expertov Follow-up Report on the Diagnosis of Diabetes mellitus. Je doporučené cut-off hodnotu pre IFG posunúť z 6,1 na 5,6 mmol/l. Dôvod: Posunutie dolnej hranice IFG smerom dolu zvýši senzitivitu a zlepši koreláciu medzi IFG a IGT. Patofyziologická väzba medzi IFG a IGT nie je jasná, ale je známe, že oba stavy predikujú riziko budúceho diabetu a sú rizikovým faktorom kardiovaskulárnych ochorení. Nová cut-off hodnota bola stanovená tak, aby dávala najvhodnejšiu kombináciu senzitivity a špecificity.

Studie DECODE (Diabetes Epidemiology: Collaborative analysis of Diagnostic criteria in Europe, Diabetes Metabol., 2000) potvrdila, že posunutie cut-off hodnoty pro diagnózu diabetu zo 7,8 mmol/l na 7,0 mmol/l v plazme žilnej krvi je odôvodnené. Počet predčasných úmrtí na kardiovaskulárne ochorenia v skupine diabetikov s FPG 7,0–7,7 mmol/ bol obdobný ako v skupine diabetikov diagnostikovaných podľa predchádzajúcich kritérií (cut-off 7,8 mmol/l). Obdobný dôkaz však zatiaľ neexistuje pre posunutie cut off hodnoty pre IFG na 5,6 mmol/l. Posunutie cut off hodnoty na 5,6 mmol/l zostáva predmetom diskusie.

### **American Diabetes Association (ADA) – 2007**

V januári roku 2007 ADA publikuje v Diabetes Care Standards of Medical care in Diabetes – 2007, kde je kapitola I a II venovaná diagnostike a screeningu diabetu. Váha jednotlivých odporúčaní je hodnotená kritériami evidence based medicine pre praktické odporúčania. Aj naďalej je doporučené používať pre diagnostiku DM u dospelých populácie a u detí stanovenie koncentrácie glukózy v plazme žilnej krvi nalačno. OGTT nie je doporučený pre rutinnú klinickú prax ako diagnostický test, je ho ale možné použiť na diagnostiku diabetu ak je u pacienta podozrenie na DM aj napriek normálnej FPG, alebo ak sa u pacienta zistí IFG.

Stanovenie HbA1C zatiaľ nie je odporúčané k diagnostike DM. Podľa „Evidence grading“ ADA sú všetky tieto kritéria klasifikované do kategórie E (konsensus expertov a klinická skúsenosť).

Pre IFG a IGT je zavedený pojem „pre-diabetes“. Oba stavy predstavujú rizikový faktor pre rozvoj diabetu a tiež rizikový faktor pre kardiovaskulárne ochorenia.

Pre diagnostiku gestačného diabetu je odporúčaný jednodstupňový screening – 100 g oGTT, alebo dvojstupňový postup: screening – 50 g oGTT, pre potvrdenie diagnózy 100 g oGTT (pripúšťa sa aj oGTT so záťažou 75 g glukózy). Skrining gestačného diabetu sa robí po analýze rizikových faktorov a na diagnostiku je doporučený výhradne oGTT. Toto odporúčanie patrí do kategórie C podľa ADA „Evidence grading“ (nie je podložené veľkými kontrolovanými štúdiami)

### **World Health Organization (WHO) – 2005**

World Health Organization (WHO) v spolupráci s International Diabetes Federation (IDF) revidovala v novembri 2005 odporúčania vydané WHO v roku 1998. Diagnostickým kritériom pre DM je vyšetrenie koncentrácie glukózy v plazme žilnej krvi – cut off hodnota > 7,0 mmol/l, a/alebo koncentrácia glukózy v plazme žilnej krvi 2 hodiny po jedle > 11,1 mmol/l (bez zmeny oproti odporúčaniam z roku 1998). Nezmenili sa ani pravidlá pre klasifikáciu IGT a sú totožné ako u ADA. Na rozdiel od ADA a v súlade s predchádzajúcim doporučením WHO je IFG definovaná ako koncentrácia glukózy v plazme žilnej krvi 6,1–6,9 mmol/l (ADA 5,6–6,9 mmol/l). V súlade s predchádzajúcim odporúčaním WHO je ako diagnostický test pre DM a pre klasifikáciu glukózo tolerančného statusu doporučený oGTT (2 hodinová koncentrácia glukózy v plazme žilnej krvi, záťaž 75 g glukózy). Diagnostika gestačného diabetu nie je revidovaná. WHO doporučuje používanie štandardného oGTT (záťaž 75 g glukózy).

WHO a ADA sa zásadne rozchádzajú v cut-off hodnote pre FPG, v preferencii používania oGTT a v postupe pri diagnostike gestačného diabetu.

### **Stanovisko odborných spoločností v Českej republike**

V Českej republike bol prijatý konsenzus odborných spoločností – ČDS ČLS JEP a ČSKB ČLS JEP v roku 2003, ktorý bol aktualizovaný v roku 2005. Odborné spoločnosti zaujali stanovisko k problematike diagnostiky DM a GDM vychádzajúc z odporúčaní ADA aj WHO. Obe odborné spoločnosti toto odporúčanie v aktualizovanej podobe zverejnili na svojich internetových stránkach [www.cskb.cz/Doporuceni/DM.htm](http://www.cskb.cz/Doporuceni/DM.htm) a publikovali v odborných časopisoch.

Zavedenie odporúčaní do klinickej praxe so sebou prináša nemalo problémov, zvlášť v situácii, kedy odporúčania medzinárodných spoločností nie sú jednotné (ADA, WHO, národné spoločnosti). Dokumentujú to aj výsledky Postanalytickej fázy v rámci kontrolných cyklov SEKK. Prieskumu sa zúčastnilo 97 pracovísk (5 pracovísk zo SR). Výsledky ukázali dobrú teoretickú informovanosť pracovníkov klinických laboratórií o danej problematike,

ale mierne zaostávajúcu realizáciu odporúčaní v klinickej praxi.

---

## SELFMONITORING A KONTINUÁLNE MERANIE GLYKÉMIE

---

DONIČOVÁ VIERA<sup>1</sup>, DONIČ VILIAM<sup>2</sup>

<sup>1</sup>INTERNÁ KLINIKA FAKULTNEJ NEMOCNICE  
L. PASTEUR

<sup>2</sup>ÚSTAV FYZIOLOGIE LEKÁRSKEJ FAKULTY UPJŠ  
KOŠICE

Vývoj malých osobných glukometrov s testovacími prúžkami umožnil sledovanie glykemických profilov samotnými pacientmi a stal sa užitočnou a nezastupiteľnou súčasťou komplexnej starostlivosti o diabetikov. Snaha o presnejšie zachytenie glykemických výkyvov priniesla kontinuálne monitorovanie glukózy (CGMS = continuous glucose monitoring system), ktorý sa po 40 rokoch vývoja stal dostupným pre bežné klinické použitie. V roku 1999 bol schválený FDA (Food and drug administration). O dva roky neskôr boli uskutočnené prvé merania na Slovensku na I. internej klinike v Košiciach.

### Princípy a technológie použité pri monitorovaní glukózy

Osobné glukometre využívajú biosenzorové technológie, ako napr. fotometrickú, alebo glukózo-oxidačnú reakciu. Rozpätie glykémii, ktoré umožňujú merať sú od 0,6–33,3 mmol/l a výsledky poskytujú v priebehu niekoľkých sekúnd. CGMS meria semiinvasívne hladinu glukózy v intersticiálnej tekutine elektrochemicky na princípe glukózo-oxidačnej reakcie. Rozsah meraní je od 2,2 do 22 mmol/l.

Do podkožia sa zavádza pomocou zavádzača tenká sterilná jednorázová elektróda, ktorá je spojená s malým prístrojom veľkosti 6 × 7 cm. Systém zaznamenáva elektrochemický signál každých 10 sekúnd, preto získame u jedného pacienta až 288 hodnôt za 24 hodín. Počas 5 dní to činí vyše 1000 meraní. Prístroj spriemerňuje namerané hodnoty každých 5 minút. Pacient si počas monitorovania zadáva do prístroja číselnými kódmi jedlo, podanie inzulínu, začiatok a koniec fyzickej aktivity, prípadný stres a ďalšie udalosti. Po ukončení monitorovania sa namerané dáta prenesú do počítača pomocou komunikačnej stanice.

Výstupom vyšetrenia je grafická krivka zobrazujúca priebeh glykémie v čase, na ktorej môžeme sledovať účinkov liečby, efekt jedla, fyzickej aktivity, stresu a porovnať ich s hodnotami glykémie meranej glukometrom. Získavame tiež tabuľku s číselnými hodnotami glykémii z každých 5 minút merania. Vymedzením plochy pod krivkou ohraničenou hornou hranicou normy glykémie a krivkou, ktorá vykresľuje odchýlku od normy, dostaneme kvantifikáciu hyperglykémie vyjadrujúcu jej celkové trvanie a intenzitu. Obdobne môžeme kvantifikovať aj hypoglykémie.

### Kalibrácia a kontrola presnosti a správnosti merania glykémie

Presnosť glukometrov môže byť ovplyvnená mnohými faktormi, ako napríklad: použitou metodikou merania, veľkosťou kvapky krvi, miestom odberu z povrchu tela (bruška prstov versus alternatívne miesta: dlaň, predlaktie, brucho), hĺbkou vpichu, tekutina v ktorej je glukóza meraná (krv, plazma, intersticiálna tekutina). Pri bežnom meraní pomocou glukometrov sa kalibrácia vykonáva pri každej šarži prúžkov v danom glukometri, kalibrovacím prúžkom alebo prestavením čísla v glukometri podľa príslušnej série prúžkov. Najvyššia presnosť je dosahovaná v rozsahu glykémii 3–9 mmol/l, pri krajných hodnotách teda aj pri hypoglykémii aj hyperglykémii presnosť meraní klesá. Vzhľadom na technické možnosti použitých technológií sú prípustné odchýlky hodnôt glykémii odmeraných glukometrom od laboratórnych hodnôt až 10% (resp. do 2 mmol/l). Pri všetkých meraniach je potrebné prísne dodržať odporúčaný postup a zásady. FDA napríklad odporúča kontrolu techniky merania glykémii glukometrom u pacienta každé tri mesiace edukovanou sestrou, aby sa vylúčili možné chyby zapríčinené nesprávnym postupom a tiež prípadná potreba vyčistenia glukometra.

Pri CGMS sa na kalibráciu využívajú glykémie odmerané glukometrom zadávané do prístroja (minimálne 4x za 24 hod). Software CGMS vypočíta priemer glykémii meraných senzorom a glukometrom pre každý deň merania, počet párových meraní glukózy glukometrom a senzorom, korelačný koeficient medzi nimi (má byť najmenej 0,8) a priemernú absolútnu odchýlku, ktorá nesmie byť väčšia ako 28%. Ak posledné tri podmienky nie sú splnené, potom daný deň nespĺňa kritériá optimálnej presnosti a pri vyhodnocovaní grafov je potrebné použiť klinické posúdenie.

Senzor merajúci hladinu intersticiálnej glukózy je teda kalibrovaný hodnotou glykémie meranej glukometrom. Štúdie u chorých s diabetes mellitus dokázali, že faktor chyby (error component) vychádzajúci z rozdielu hladiny glukózy v plazme a v intersticiálnej tekutine bol < 6%. Pri týchto výpočtoch sa zohľadňuje časový posun medzi glykémii v kapilárnej krvi a koncentráciou glukózy v intersticiálnej tekutine. Nakoľko faktor chyby je prevažne v rozmedzí normálnych arteriovenózných rozdielov glykémii, nie je potrebné použiť digitálny filter na korekciu časového posunu medzi hladinou glukózy v interstíciu a v krvi.

### Odporúčané frekvencie monitorovania glukózy, indikácie a prínos CGMS

Pri monitorovaní glykémii glukometrom sú odbornými diabetologickými spoločnosťami odporúčané frekvencie monitorovania glykémii v závislosti od druhu základnej liečby, stavu kompenzácie ochorenia, rizika hypoglykémii, veku pacienta a iných zvláštnych okolností (tehotenstvo, akútne ochorenie a pod.). Ako napríklad pri intenzifikovanej inzulínovej liečbe s aplikáciou inzulínu 3 a viackrát denne sa odporúča merať glykémii až 4x denne, pri aplikácii inzulínu 2x denne, u pacientov liečených tabletkovou formou 3 merania týždenne. Glykémie sa merajú na lačno,

90–120 min po jedle, pred spaním a o 3 hod ráno.

Kontinuálne monitorovanie glykémie poskytuje hodnoty glykémie v ktorejkoľvek dennej dobe a mohlo by byť užitočné u každého chorého s diabetes mellitus, ale ide o značne časovo a finančne náročnú metódu. Preto hlavné indikácie CGMS sú:

1. Zle kompenzovaní chorí s diabetes mellitus.
2. U chorých s častými hypoglykémiami.
3. Pri výskyte alebo pri podozrení na bezpríznakové a nočné hypoglykémie.
4. V prekoncepčnom a gestačnom období s cieľom čo najviac optimalizovať glykémie.
5. Pri nastavovaní pacienta na liečbu inzulínovou pumpou.

Miesto CGMS v monitorovaní glykemickej kompenzácie:

6. CGMS poskytuje úplný obraz o trendoch a vzoroch zmien glykémie.
7. Pomôcka pri kontrole správnosti liečby.
8. Diagnostický nástroj (zachytenie Dawn a Somogyiho fenoménu, nepoznané hypoglykémie a i.).
9. Kvantifikácia prolongovanej hypo- a hyperglykémie.
10. Pomôcka pri určení správneho množstva a druhu potraviny s obsahom sacharidov pri liečbe hypoglykémie.
11. Vyhodnocovanie dostatočnosti selfmonitoringu.
12. Pomôcka pri edukácii a zvýšení motivácie pacienta  
Nové trendy a budúcnosť.

U nových glukometrov sa stáva trendom kalibrácia meraní na plazmatické hodnoty glukózy, aby boli porovnateľné s laboratórnymi hodnotami meranými z plazmy (hodnoty kalibrované voči plazmatickým hodnotám sú o 8–12 % vyššie ako kalibrované voči hodnotám v plnej krvi). Novšie glukometre majú zabudovanú kontrolu pri nedostatočne veľkej kvapke krvi, aby nedošlo v tomto prípade k chybnému meraniu. Skracuje sa doba potrebná na meranie. Pri CGMS má nová generácia prístrojov zabudovaný hypoglykemický a hyperglykemický alarm (nastaviteľný pacientom na hodnoty ktoré si zvolí v mmol/l) a znázorňuje na displeji prístroja aktuálne merané hodnoty glykémie a jej trendy, čo umožňuje okamžitú úpravu liečby. Vývoj pri monitorovaní glykémie smeruje na neinvazívne a /alebo kontinuálne bezdrôtové meranie glykémii v koži.

### Záver

Meranie glykémii je nevyhnutné pre kontrolu a liečbu diabetického pacienta. V súčasnosti technológie ako aj prístroje na monitoring glykémii prekonávajú dramatický vývoj a rozmach. Pri každej použitej metodike a zariadení musíme brať do úvahy možné nepresnosti a chybovosť, aby sa výsledky adekvátne interpretovali a využili pri úprave liečby.

Kontinuálne monitorovanie glykémie je jeden z významných pokrokov v diagnostike výkyvov glykémie u chorých s diabetes mellitus za uplynulé obdobie. Poskytuje údaje o účinku danej farmakologickej a režimovej liečby na exkurzie glykémii, ako aj o postprandiálnych výkyvoch glykémie. Je užitočné pri asymptomatických nočných hypoglykémiiach, ktoré nebolo možné doposiaľ zachytiť

bežným selfmonitoringom z meraní kapilárnych glykémii. Získané hodnoty glykémie sú dostatočne presné, na to, aby mohli slúžiť pre praktické potreby diabetológa.

---

## STANOVENIE C-PEPTIDU V PRAKTICKEJ DIABETOLÓGII

---

JANCO ANDREJ<sup>1</sup>, OLEKŠÁK EDUARD<sup>2</sup>  
JANCOVÁ ALENA<sup>1</sup>, RÁCZ OLIVER<sup>3</sup>

<sup>1</sup>JAAT STYLE, S.R.O. SÚKROMNÁ  
DIABETOLOGICKÁ A INTERNÁ AMBULANICA  
<sup>2</sup>PMEDY S.R.O  
<sup>3</sup>LEKÁRSKA FAKULTA UNIVERZITY  
P.J. ŠAFÁRIKA, KOŠICE

Stanovenie C-peptidu bolo donedávna považované za špeciálnu pomocnú diagnostickú metódu s úzkym okruhom aplikácie v praktickej diabetológii. Spojovací (connecting) peptid je však oveľa lepším ukazovateľom sekrécie inzulínu, ako samotný inzulín, ktorý po sekrécii z Langerhansových ostrovcov je vychytávaný v pečeni. Najnovšie boli publikované aj údaje o možných fyziologických účinkoch C-peptidu.

Výšetrenie C-peptidu v krvi je v súčasnosti indikované u diabetikov 1. typu na posúdenie zbytkovej sekrécie inzulínu a u diabetikov 2. typu pri rozhodovaní o začatí inzulínovej liečby. Vyšetruje sa bazálna hodnota C-peptidu a hodnota po stimulácii glukagónom. Okrem toho C-peptid sa využíva pri diferenciálnej diagnostike LADA a diabetu 2. typu.

Na základe konfrontácie dnešných poznatkov o patofyziológii diabetes mellitus a súčasných možnosti laboratórnej medicíny je opodstatnené tvrdenie, že stanovenie koncentrácie C-peptidu v diabetologickej praxi má význam na posúdenie sekrécie inzulínu u každého chorého s diabetes mellitus.

K tomu, aby došlo k zmene súčasného stavu je potrebné:

- Exaktne vyhodnotiť hodnotu informácie poskytovanej jeho stanovením, v uvedených indikáciach
- určiť referenčné hodnoty C-peptidu v populácii (nalačno, po záťaži alebo po stimulácii).
- navrhnúť jednoduchý algoritmus vyšetrenia C-peptidu a pravidlá interpretácie výsledkov.

---

## DIABETES NIE JE LEN O GLYKÉMII

---

PECHÁŇ IVAN, DAŇOVÁ KATARÍNA

ODDELENIE LABORATÓRNEJ MEDICÍNY  
NÁRODNÝ ÚSTAV SRDCOVÝCH A CIEVNÝCH  
CHORÔB BRATISLAVA

Progresívne sa zvyšujúci počet diabetikov predstavuje významný medicínsky problém a možno konštatovať, že toto civilizačné ochorenie dostáva charakter celosvetovej epidémie. Diabetes mellitus sa pritom považuje za dominantný rizikový faktor kardiovaskulárnych chorôb a podieľa sa tak výrazne na celkovej mortalite pacientov.

Sledovanie veľkého súboru diabetikov dovolilo Juutilainenovi a kol. (2005) považovať diabetes typu 2 dokonca za „ekvivalent choroby koronárnych artérií“. Celý rad autorov zistil, že kardiovaskulárne postihnutie diabetikov môže byť dlhé roky diagnosticky nemé, vyvíja sa postupne a v konečnom dôsledku ostáva jednou z dominantných príčin skorej mortality pacientov. Tento postupný, v skorých štádiách rutínnymi klinickými procedúrami takmer nediagnostikovateľný nepriaznivý vývoj diabetu vyvolal stále intenzívnejšie úsilie viacerých renomovaných pracovísk nájsť prístupný, pre širší skrining použiteľný marker, ktorý by bol neinvazívny a menej náročný ako pravidelné vyšetrenie pacientov špeciálnymi diagnostickými metódami (napr. echokardiografiou).

V poslednom období sa pozornosť viacerých autorov sústredila na stanovenie hladín kardiálnych neurohormónov – natriuretických peptidov. Z nich predovšetkým natriuretický peptid typu B (BNP) sa produkuje a uvoľňuje do krvnej cirkulácie zo srdcových komôr už pri miernej expanzii objemu ľavej komory a pri jej tlakovom preťažení. Preto sa stanovenie hladín tohto peptidu pri skorých formách srdcovej nedostatočnosti postupne stalo takmer rutínnym biochemickým parametrom, ktorý významne prispieva k hodnoteniu klinického stavu a prognózy kardiakov.

Pred nedávnom sa viacero autorov pokúsilo využiť tieto vlastnosti BNP i pri odhaľovaní skorej, klinicky rutínne nediagnostikovateľnej funkčnej poruchy srdcovej funkcie u pacientov s diabetom. Ukázalo sa, že stanovenie BNP a najmä jeho prekurzora NT-proBNP by mohlo byť skutočne využiteľné pre diagnostiku klinicky „nemej“, ale postupne progredujúcej kardiálnej dysfunkcie. Magnusson a kol. (2004) vyšetrili takmer 300 diabetikov s asymptomatickou ľavokomorovou dysfunkciou a našli u nich štatisticky vysoko významné zvýšenie hladín NT-proBNP, pričom konštatujú, že diabetes typu 2 je spojený s kardiovaskulárnymi chorobami bez klinických prejavov vo vyššej miere ako sa doteraz predpokladalo. Táto skupina pacientov s diabetom mohla byť potom podrobnejšie sledovaná a častejšie kardiologicky kontrovaná a adekvátnejšie liečená. K podobným výsledkom viedla i štúdia diabetikov typu 2, uskutočnená na renomovanom dánskom Steno Diabetes Center. Hladiny BNP a NT-proBNP boli všeobecne vyššie u dia-

betikov v porovnaní s nediabetikmi. Významne sa na nich podieľala i diabetická mikroalbuminúria, u ktorej sa našli i zvýšené hodnoty atriového natriuretického peptidu.

Patogenetické mechanizmy tohto zvýšenia hladiny natriuretických peptidov nie sú zatiaľ presne známe, predpokladá sa, že u diabetikov spôsobuje albuminúriu znížená regulácia A-typu receptora obličkových tubulov, ktorý je asociovaný s guanylátcyklázou. U oboch typov natriuretických peptidov ide o súťaž o rovnaký typ receptora. Hladiny BNP a NT-proBNP majú veľký prognostický význam i pre hodnotenie dlhodobého prežívania diabetikov – viacero autorov zistilo, že zvýšené hladiny tohto peptidu už pri prvom stanovení sú úzko späté so zvýšenou mortalitou pacientov nielen pre kardiovaskulárne zlyhanie, ale i pre iné príčiny, ktoré vedú k mortalite. Takéto skoré vyšetrenie uvedených biochemických parametrov môže významne prispieť k agresívnejšej terapeutickému stratégiu u pacientov s výraznejším zvýšením hladín BNP a NT-proBNP. Záverom možno povedať, že stanovenie hladín BNP a najmä NT-proBNP je významným diagnostickým kritériom pre skoré odhalenie funkčnej kardiálnej poruchy i pre objektívne stanovenie prognózy týchto pacientov.

---

## SÚČASNÁ LIEČBA DIABETES MELLITUS A JEJ PERSPEKTÍVY

---

VOZÁR JURAJ

JESENIUS SAMARIA S.R.O.  
DIABETOLOGICKÁ AMBULANCIA  
NEŠTÁTNEJ POLIKLINIKY, ŠAMORÍN

Autor pojednáva o liečbe orálnymi antidiabetikami, kde dominujúcou liečbou sú v súčasnej dobe inzulínové senzitivizéry. Biguanidy sú prvým krokom medikamentózneho voľby dnes už aj u neobéznych diabetických pacientov. Ich indikáciu silne podporila štúdia UKPDS.

Glitazóny sú alternatívou sulfonylurey v kombinovanej liečbe, alebo môžu byť pridané aj do orálnej trojkombinácie. Autor uvádza dielčie výsledky dlhodobých randomizovaných štúdií ADOPT, RECORD a PROACTIVE.

Blízkou perspektívou sa snáď stane liečba obeznych pacientov s diabetom rimonabantom, ktorý blokádou endokannabinoidného systému zaujímavovo znižuje hmotnosť pacientov a nezávisle od toho aj zlepšuje aj jednotlivé črty metabolického syndrómu – glykémii, triacylglyceroly a hodnoty krvného tlaku. Jeho uvedenie sa očakáva v druhej polovine 2007.

Perspektívou je tiež duálny zásah do sekrécie pankreasu gliptínmi – inhibítormi dipetidyl-peptidázy. Autor uvádza elegantný mechanizmus účinku a prvé experimentálne skúsenosti s týmito liekmi, ktoré pri liečbe nezvyšujú hmotnosť. Uvedenie sitagliptínu sa očakáva v druhej polovine 2007.

V oblasti parenterálnej liečby je pojednané o inzulínových analógoch a ich porovnanie s klasickými humánnymi

inzulínmi. Zatiaľ na trh neuvedený inhalačný krátkoúčinný inzulín exubera bol schválený FDA a čaká na uvedenie u nás. Zaujímavou skupinou pre parenterálnu liečbu oboch typov diabetu bude aj subkutánný analóg amylinu (pramlintid). Injekčná liečba typu 2 diabetu inhibítormi dipeptidyl-peptidázy (exenatid a liraglutid) nezvyšuje hmotnosť u obéznych pacientov.

Autor kriticky zhodnocuje doterajšie výsledky aj vzhľadom na nežiadúce účinky uvedených liekov a ich prínos v oblasti nielen zníženia glykémii ale aj výskytu chronických cievnych komplikácií a pomeru efektivity a ceny.

Hyperosmolárny hyperglykemický syndrom zvyčajne sprevádza komplikácie diabetes mellitus 2. typu. Pritomná je extrémna dehydratácia nezriedka s deficitom 8–10 litrov telesných tekutín. Pritomná je závažná porucha vedomia, krče, ťažká hyperglykémia bez ketoacidózy. Liečba spočíva v eliminácii príčiny, ktorá tento stav vyvolala, intenzívnym sledovaním parametrov vnútorného prostredia, kontinuálnym podávaním inzulínu za stáleho monitorovania glykémii. V liečbe intenzívne pacienta rehydratujeme, saturujeme draslík, upravujeme aktuálne podľa potreby vnútorného prostredia.

---

## LIEČBA CHORÉHO S DIABETES MELLITUS V NEMOCNICI

---

BABČÁK MARIÁN

PRVÁ INTERNÁ KLINIKA  
FAKULTNEJ NEMOCNICE  
J.A. REIMANA V PREŠOVE  
FAKULTA ZDRAVOTNÍCTVA  
PREŠOVSKÉJ UNIVERZITY

Najčastejšou akútnou komplikáciou cukrovky, s ktorou prichádzajú diabetici do nemocnice, je diabetická ketoacidóza, hypoglykemická kóma a hyperglykemický hyperosmolárny syndróm. Tieto stavy vyžadujú emergentnú hospitalizáciu, intenzívnu liečbu, laboratórne sledovanie a elimináciu príčiny, pre ktoré vznikajú. Diabetická ketoacidóza je život ohrozujúci stav s charakteristickou hyperglykemiou, hyperosmolaritou, ťažkou dehydratáciou, elektrolytovým rozvratom a rôzne vyjadreným stupňom poruchy vedomia.

---

## Hb A1c – HARMONIZÁCIA VÝSLEDKOV V SLOVENSKEJ REPUBLIKE

---

BALLA JÁN, KOVÁČ GUSTÁV  
FARKAŠ MICHAL, BLAŽIČEK PAVOL

ANALYTICKÉ-DIAGNOSTICKÉ LABORATÓRIUM  
ADL PREŠOV,  
ÚSTAV CHÉMIE, KLINICKEJ BIOCHÉMIE  
A LABORATÓRNEJ MEDICÍNY,  
SLOVENSKÁ ZDRAVOTNÍCKA UNIVERZITA  
BRATISLAVA  
NEMOCNICA S POLIKLINIKOU TREBIŠOV,  
TOP-MED A.S.,  
ODDELENIE KLINICKÝCH LABORATÓRIÍ  
BRATISLAVA

Praca *in extenso* vyjde v nasledujúcom čísle Laboratornej diagnostiky.

**BIOTECHNOLOGICKÁ SPOLOČNOSŤ DB BIOTECH S.R.O. V KOŠICIACH**  
prijme do trvalého pracovného pomeru **vedúceho laboratória** s vysokoškolským vzdelaním.

**Požiadavky:**

Vysokoškolské vzdelanie prírodného, chemického alebo medicínskeho zamerania.

Prax s prácou v laboratóriu minimálne 2 roky, titul Ph.D. vítaný.

Nutná prax s purifikáciou proteínov, analýzou ich čistoty pomocou gélovej chromatografie a s western blotom.

Znalosť jazyka anglického slovom a písmom.

Znalosti v oblasti proteomiky a molekulárnej biológie výhodou.

**Kontakt:** DB Biotech s.r.o  
Popradská 80  
041 01 Košice  
Tel: 0918 626 669