

Editoriál

Laboratórne vyšetrenia sú súčasťou diagnostického procesu, ktorý je začiatkom diagnostiky a liečby pacienta. Laboratórne vyšetrenia sú však nevyhnutné aj pre optimalizáciu faktorov ovplyvňujúcich zdravie jednotlivca i celej spoločnosti. Je veľmi dôležité uvedomiť si, že laboratórna diagnostika nie je len segmentom poskytovania zdravotnej starostlivosti, ale aj dôležitým prvkom ochrany, podpory a rozvoja zdravia.

Laboratórna diagnostika pri poskytovaní zdravotnej starostlivosti je nezastupiteľná predovšetkým v rozhodovacom procese najmä pri akútnych zlyhaniach, pri monitorovaní pacienta v kritickom stave na jednotkách intenzívnej starostlivosti, ale aj pri monitorovaní pacientov s chronickými chorobami. Je aj nevyhnutnou súčasťou preventívnych programov.

Jasné zmeny fyziologických substancií môžeme vidieť pri orgánovom postihnutí a môžeme povedať, že čím je toto poškodenie ťažšie, tým sú aj laboratórne zmeny lepšie vyjadrené. Význam laboratórných vyšetrení v týchto stavoch je teda obrovský, ale nevyhnutná je práve správna interpretácia výsledkov. Spolupráca klinikov a laboratórných diagnostikov pri poskytovaní zdravotnej starostlivosti, a to najmä pri správnej indikácii a interpretácii výsledkov je nevyhnutná.

Často pozorujeme aj také javy, že pacient sa necíti dobre, má rôzne klinické prejavy, ale výsledky nám vychádzajú v referenčných intervaloch. Ani v takomto prípade sa nemôžeme uspokojiť. Tak ako nameraním patologických hodnôt u mnohých parametrov, avšak bez klinických prejavov u pacienta nemôžeme pristúpiť k liečbe „laboratórneho výsledku“, tak aj v prípade negatívnych hodnôt laboratórných parametrov nemôžeme pri pozitívnych klinických príznakoch odmietnuť pacienta. Pre laboratóriá to znamená, že je potrebné hľadať príčiny v celom procese laboratórneho vyšetrenia, nevynímajúc preanalytickú fázu, ktorej kvalita zaostáva za relatívne dobre zabezpečenou kvalitou laboratórných analýz.

Ekonomicky vyspelé krajiny sveta riešia rôzne problémy svojich zdravotníckych systémov. Okrem afrických krajín, kde je organizovaná laboratórna diagnostika málo dostupná, očakávajú systémy nárast chronických chorôb, zvýšené očakávania pacientov, rast cien laboratórnej techniky a technológií, rast cien liekov a energií. Oproti týmto faktorom stoja skoro vo všetkých krajinách obmedzené možnosti rastu financií do zdravotníctva.

Laboratórna diagnostika sa však stretáva ešte s jedným fenoménom. Napriek tomu, že medicínska laboratórna diagnostika na rozdiel od celej škály klinických odborov už minimálne 50 rokov intenzívne pracuje na zabezpečovaní čo najväčšej kvality (merateľnej kvality) vyšetrení a na vysokej spoľahlivosti laboratórných výsledkov, napriek veľkému úsiliu vysokoerudovaných odborníkov zo všetkých laboratórných odborov, je tento segment poskytovania zdravotnej starostlivosti nedocenený odborne ani spoločensky, a to nielen klinikmi a pacientami, ale aj platcami za poskytnuté výkony zdravotnej starostlivosti.

Nárast civilizačných ochorení vedie k úvahám o nevyhnutnej spolupráci dvoch základných pilierov zdravotníckeho systému: 1. Ochrany, podpory a rozvoja zdravia a 2. Poskytovania zdravotnej starostlivosti. Zvýšený výskyt týchto ochorení tiež vedie mnohých odborníkov k úvahám o širších príčinných súvislostiach, ktoré je potrebné pri diagnostike a liečbe pacienta brať do úvahy. Je to prostredie, v ktorom človek žije a spôsob života, ktorý vedie.

Nové trendy v poskytovaní zdravotnej starostlivosti sa orientujú dnes na integráciu procesov a multidisciplinárnu spoluprácu ako nádej na nový model zdravotnej starostlivosti (poskytovanie zdravotnej starostlivosti v súčinnosti s ochranou a podporou zdravia), ktorý by mohol byť východiskom pre mnohé zdravotnícke systémy zo začínajúcej krízy a zároveň by prispel k lepšej starostlivosti o pacienta aj o zdravotníckych pracovníkov.

Laboratórna diagnostika už od svojho vzniku nesie prvky multidisciplinárnej spolupráce. Toto jej poslanie môže byť v budúcnosti základom pre vznik nových modelov zdravotnej starostlivosti. Laboratórna diagnostika však nesmie stratiť svoj medicínsky charakter. Nesmie sa stať „továrňou na výrobu laboratórných

výsledkov“ a nesmie stratiť ani svoj morálny aspekt. Zdravotnícka etika musí byť jej základom, iba tak môže prekonať obrovskú krízu nedôvery, ktorá sa začala šíriť naprieč celým zdravotníckym systémom na Slovensku.

„Cieľom lekárstva by mala byť realistická etika zmysľania a činov, kde normy vnášajú svetlo do danej situácie a kde daná situácia naopak určuje normy správania, kde sa detailná znalosť odboru dopĺňa s morálnou zodpovednosťou, kde sa všetko podriaďuje zdravotnej starostlivosti, ktorej základom je vecnosť, osobná oddanosť a úcta k ľudskej dôstojnosti chorého človeka.“ (Hans Kung)

RNDr. Monika Trechová, MPH

**SEPARÁCIA ALIFATICKÝCH KARBOXYLOVÝCH KYSELÍN VYUŽITÍM
HYDROFILNE-INTERAKČNEJ CHROMATOGRAFIE
SEPARATION OF ALIPHATIC CARBOXYLIC ACIDS
BY HYDROPHILIC-INTERACTION CHROMATOGRAPHY**

BOHÁČOVÁ Iveta, HALKO Radoslav, HUTTA Milan

Katedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava

Abstrakt

Karboxylové kyseliny tvoria dôležitú skupinu organických zlúčenín, ktoré sú široko používané v rôznych odvetviach ľudskej činnosti. Napríklad v potravinárskom priemysle sú najčastejšie prítomné v nápojoch ako v ovocných džúsoch, mliečnych výrobkoch, víne a octe, alebo sú používané ako potravinárske aditíva. V medicíne karboxylové kyseliny môžu slúžiť ako indikátory celého radu ochorení a vo farmaceutickom priemysle sa využívajú v mnohých liečivách. Z tohto dôvodu je potrebné vyvíjať nové spoľahlivé analytické metódy na ich stanovenie v rôznych environmentálnych, biologických a potravinárskych vzorkách. V našej štúdií bola na separáciu alifatických karboxylových kyselín použitá hydrofilne-interakčná chromatografia. Separácia prebehla na analytickej kolóne so zwitteriónovými funkčnými skupinami. Mobilná fáza sa skladala z vodného roztoku octanu amónneho a acetonitrilu.

Kľúčové slová: Alifatické kyseliny. Hydrofilne-interakčná chromatografia. Separácia

Abstract

Carboxylic acids are an important group of organic compounds that are widely used in various segments of human activities. For example, in the food industry, they are most commonly present in beverages such as fruit juices, dairy products, wine and oats, or are used as food additives. In medicine, carboxylic acid can serve as indicators of a wide range of diseases and are used in many drugs in the pharmaceutical industry. For this reason it is necessary to develop new reliable analytical methods for their determination in different environmental, biological and food samples. In our study, hydrophilic-interaction chromatography was used to separate aliphatic carboxylic acids. Separation was performed on an analytical column with zwitterionic functional groups. The mobile phase consisted of an aqueous solution of ammonium acetate and acetonitrile.

Key words: Aliphatic acids. Hydrophilic-interaction chromatography. Separation

ÚVOD

Štúdium alifatických a aromatických karboxylových kyselín je dôležité, nakoľko tvoria významnú zložku životného prostredia a sú bežne využívané v potravinárstve, poľnohospodárstve a v medicíne. V životnom prostredí sa karboxylové kyseliny nachádzajú najmä v pôdach. Alifatické karboxylové kyseliny ako napríklad kyselina šťaveľová, octová a citrónová, zohrávajú dôležitú úlohu v pôdných

procesoch či už v transporte rastlinných živín alebo v ochrane rastlinných koreňov ktoré sú v kyslých pôdach vystavené toxickým koncentráciám napr. kationov hliníka [1].

Voľné formy alifatických karboxylových kyselín sa nachádzajú v rôznom ovocí, napríklad kyselina jablčná v jablkách či kyselina citrónová v citrusových plodoch. Dôležitú úlohu pri výrobe vína zohrávajú kyselina vínna, mliečna a jablčná, ktoré sa nachádzajú v bobuliach hrozna, prípadne vznikajú počas fermentačného procesu [2]. V potravinárskom priemysle sa ako konzervačná látka využíva napríklad kyselina benzoová, ktorej sodná soľ sa používa na inhibíciu mikroorganizmov v potravinách. Kyselina glukónová je tiež povolená potravinárska prídavná látka, ktorá sa pridáva buď s kyselinou citrónovou alebo ako jej náhrada na vylepšenie chuťových a antioxidačných / konzervačných vlastností potravín.

Karboxylové kyseliny a ich deriváty sa používajú v medicíne ako antiseptické, antireumatické, anestetické, analgetické, antipyretické a nesteroidné protizápalové liečivá. Taktiež slúžia ako indikátory niektorých chorôb, kedy ich vysoká koncentrácia napríklad v moči naznačuje metabolickú poruchu nazývanú organická acidúria, ktorá patrí medzi dedičné metabolické poruchy. Medzi najznámejšie organické acidúrie patria propiónová, glutárová, metylmalónová a pyroglutárová acidúria [3]. Sledovanie karboxylových kyselín je tiež dôležité u pacientov s diabetes mellitus (kyselina 3-hydroxybutyrová), ochorením obličiek (kyselina močová), energetickým metabolizmom (kyselina jablčná a citrónová) a mnohými ďalšími ochoreniami [4].

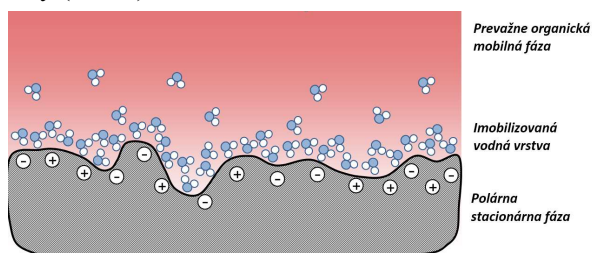
Separácia karboxylových kyselín predovšetkým polárnych alifatických karboxylových kyselín s krátkym alkylovým reťazcom, je v kvapalinovej chromatografii obtiažna. Nakoľko v kvapalinovej chromatografii v systéme obrátených fáz, sú slabo zadržované a eluujú v mŕtvom objeme kolóny, je potrebné hľadať vhodné alternatívy na ich separáciu.

V dnešnej dobe sa do popredia záujmu dostáva hydrofilne interakčná chromatografia (HILIC), ktorej chromatografický systém je ortogonálny voči kvapalinovej chromatografii v systéme obrátených fáz. Vďaka tejto ortogonalite je hydrofilne interakčná chromatografia vhodná na separáciu polárnych látok akými sú alifatické karboxylové kyseliny.

Separáčny mechanizmus hydrofilne interakčnej chromatografie

Pojem hydrofilne interakčná chromatografia (HILIC) zaviedol Alpert [5] v roku 1990 na popisanie LC metódy v ktorej polárne analyty interagujú s polárnou stacionárnou fázou a eluujú v pomerne hydrofóbnej mobilnej fáze. Avšak dávno predtým ako Alpert predstavil pojem HILIC, boli uskutočnené štúdie, ktoré sa zaoberali separáciou polárnych látok na polárnych stacionárnych fázach. Tieto prvotné štúdie zahrňovali separáciu sacharidov [6, 7]. V týchto štúdiách boli autori názoru, že separácia polárnych látok je riadená sorpciou a desorpciou hydroxylových skupín analytov na povrchu stacionárnej fázy. Avšak táto teória platila len pre analyty ktoré obsahovali hydroxylové skupiny, čo výrazne redukovalo jej rozsah a preto ďalšie štúdie viedli k novým teóriám separačného mechanizmu. Ďalší autori, po sledovaní separácií karbohydrátov na čistom silikagély a modifikovanom silikagély aminoskupinami, prišli k záveru, že ich separácia je riadená predovšetkým rozdeľovaním analytov medzi dve kvapalnú fázu [8, 9].

Až Alpert objasnil komplexný mechanizmus separácie látok v HILIC [5]. Ten je založený na tom, že polárne skupiny naviazané na povrchu stacionárnej fázy priťahujú molekuly vody z vodno-organickej mobilnej fázy, čím vytvárajú na povrchu silikagélu čiastočne imobilizovanú vodnú vrstvu. Nakoľko je voda miešateľná s organickými rozpúšťadlami používanými v HILIC (acetonitril, metanol) vzniká difúzna vodná vrstva so znižujúcim sa koncentračným gradientom vody smerom do mobilnej fázy (Obr.1).



Obrázok 1 Schematický obrázok difúznej vodnej vrstvy na povrchu polárnej stacionárnej fázy v HILIC

Analyt, ktorý je rozpustený v mobilnej fáze tak podlieha rozdeľovaniu medzi dve kvapalnú fázu: 1. na vodu bohatšiu stacionárnou fázou a 2. prevažne organickú mobilnú fázu. Polárnejšie analyty majú potom vyššiu afinitu k čiastočne imobilizovanej vodnej vrstve než k organickej mobilnej fáze.

Separácia karboxylových kyselín

Z karboxylových kyselín sa autori vo väčšine prác zaoberali separáciou aromatických kyselín a ich derivátov. Greco a kol. študovali separáciu hydroxy-, dihydroxy- a trihydroxybenzoových kyselín spolu s aminobenzoovými kyselinami na zwitteriónovej (ZIC) stacionárnej fáze a sledovali vplyv prídavku acetonitrilu do mobilnej fázy, vplyv koncentrácie solí v mobilnej fáze a zmenu pH. Z nameovaných výsledkov autori dospeli k záveru, že separáčny mechanizmus týchto kyselín je riadený rozdeľovaním a pravdepodobne aj adsorpciou [10]. Guo a kol. študovali vplyv chromatografických podmienok na separáciu šiestich karboxylových aromatických kyselín na rôznych stacionárnych fázach (amidová, aspartamidová, silikagélová, sulfobetainová a aminová). Najnižšie rozlíšenie týchto kyselín bolo na čistej silikagélovej stacionárnej fáze a sulfobetainovej stacionárnej fáze. Naopak veľmi silné zadržanie vykazovali testované kyseliny na aminovej stacionárnej fáze [11]. Škeríková a Jandera separovali jedenásť fenolových kyselín metódami HILIC a reverznofázovou chromatografiou (RP-LC). HILIC separácia sa ukázala byť účinnejšia oproti RP-LC, kedy za použitia gradientovej elúcie sa im podarilo metódou HILIC odseparovať desať z jedenástich testovaných fenolových kyselín, zatiaľ čo metódou RP-LC odseparovali len sedem kyselín [12]. Fenolové kyseliny boli predmetmi záujmu aj v iných prácach [13, 14].

Štúdium separácie jednoduchých alifatických karboxylových kyselín v HILIC nebolo uskutočňované v takom rozsahu ako v prípade aromatických karboxylových kyselín. Separácia homocysteínu, kyseliny metylmalónovej a kyseliny jantárovej v klinickej diagnostike bola uskutočnená Appelblodom a Abrahamssonom na sulfoalkylbetainovej ZIC stacionárnej fáze s hmotnostnou detekciou [15]. Kyselina jantárová a mliečna a ďalšie organické látky boli stanovené v metabolomických štúdiách [16]. Kyselina vínna, ferulová a citrónová boli stanovené v džúsoch a vínach [17]. Jedna z mála prác, ktorá sa zaoberala separáciou väčšieho počtu alifatických karboxylových kyselín bola práca Kitanovského

a kol. [18]. Separáciu jedenástich alifatických karboxylových kyselín uskutočnili na amidovej kolóne a následne aplikovali na ich stanovenie v atmosférických aerosólov. Marrubini a kol. porovnávali selektivitu separácie alifatických karboxylových kyselín na štyroch ZIC stacionárnych fázach. Ako mobilnú fázu použili fosforečnanový tlmivý roztok s hodnotou pH 7,5, ktorá v konečnom dôsledku nebola vhodná nakoľko spôsobovala upchatie kolóny približne po 50-tich dávkovaniach [19].

Z naštudovanej literatúry vyplýva, že využitie HILIC na separáciu polárnych látok v dnešnej dobe stále narastá. Okrem separácie karboxylových kyselín sa využíva predovšetkým na separáciu cukrov v jedle a nápojoch [20], cukrov v tradičnej čínskej medicíne [21], glykozaminoglykánov [22] a glykoproteínov [23]. Množstvo prác sa zaoberá separáciou aminokyselín [10], nukleových kyselín, nukleozidov [24], flavonoidov [25], peptidov [26] a proteínov [27]. HILIC našla využitie aj vo farmaceutickom priemysle, kde je nevyhnutnosťou stanovenie polárnych účinných farmaceutických látok na nízkych koncentračných úrovniach, kde použitie RP-LC metódy nepostačuje. Medzi zaujímavé aplikácie HILIC patrí stanovenie folátov (kyselina listová, tetrahydrofolát, 5-metyltetrahydrofolát a 5-formyltetrahydrofolát) v ľudskej plazme [28].

MATERIÁL A METÓDY

Chemikálie

Všetky štandardné látky testovaných karboxylových kyselín boli zaobstarané od firmy Merck (Darmstadt, Nemecko). Názvy testovaných kyselín a ich skratky sú uvedené v tabuľke 1. Zásobné roztoky alifatických karboxylových kyselín boli pripravené rozpustením príslušnej hmotnosti, prípadne zriedením príslušného objemu v acetonitrile < 99 % (Merck, Darmstadt, Nemecko). Octan amónny (NH₄Ac) od firmy Merck (Darmstadt, Nemecko), bol použitý na prípravu tlmivého roztoku a mobilnej fázy. Na prípravu všetkých vodných roztokov bola použitá ultračistá deionizovaná voda, ktorá bola pripravená systémom Water Pro PS (Labconco, USA) a následne bola prečistená systémom Simplicity® Ultrapure (Milipore, Molsheim, Francúzsko).

Príprava zásobných roztokov

Zásobné roztoky alifatických karboxylových kyselín: šťaveľová, malónová, metylénjantárová, fumarová, maléinová, jantárová, jablčná, vínna, glutárová, o koncentrácií 10 g/l a kyseliny adipová, pime-

Tabuľka 1 Názvy a skratky testovaných kyselín

Skratka	Triviálny názov kyseliny
ADI	Kyselina adipová
FOR	Kyselina mravčia
FUM	Kyselina fumarová
GLT	Kyselina glutárová
GLU	Kyselina glukónová
LAC	Kyselina mliečna
MAL	Kyselina jablčná
MLE	Kyselina maléinová
MLO	Kyselina malónová
MSC	Kyselina metylénjantárová
OXA	Kyselina šťaveľová
PIM	Kyselina pimelová
PRO	Kyselina propiónová
SUB	Kyselina suberová
SUC	Kyselina jantárová
TAR	Kyselina vínna

lová a suberová, ktorých koncentrácie boli 5 g/l boli pripravené rozpustením 250 mg, resp. 125 mg štandardnej látky v 25 ml 80% vodného roztoku acetonitrilu. Zásobné roztoky alifatických karboxylových kyselín: mravčia, propiónová, mliečna a glukónová o koncentrácií 10 ml/l boli pripravené napipetovaním 250 µl štandardného roztoku do 25 ml odmernej banky a boli doplnené 80% vodným roztokom acetonitrilu. Následne boli zásobné roztoky prefiltrované cez PTFE mikrofilter Econofilter (25 mm / 0,20 µm). Pracovné roztoky alifatických karboxylových kyselín boli pripravené zriedením zásobných roztokov použitou mobilnou fázou. Vodný roztok octanu amónneho bol pripravený navážením príslušnej hmotnosti octanu amónneho a jeho rozpustením v ultračistej deionizovanej vode. Vodný roztok octanu amónneho a acetonitrilu bol vždy zmiešaný mimo chromatografického systému. Výsledná mobilná fáza bola následne upravená pomocou ultrazvukovej vane po dobu 15 minút.

Prístroje a zariadenia

Na separáciu karboxylových kyselín bol použitý kvapalinový chromatograf Elite LaChrom od firmy Merck – Hitachi (Darmstadt, Nemecko). Namerané dáta boli vyhodnotené pomocou programu EZ-Chrom Elite ver. 3.1.7.

Na separáciu kyselín bola použitá chromatografická kolóna SeQuant ZIC-HILIC (150 × 4,6 mm I.D, 5 µm) so sulfobetainovými funkčnými skupinami (Merck, Darmstadt, Nemecko).

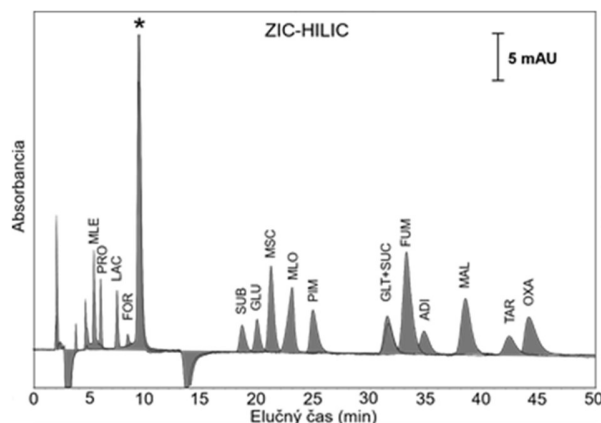
VÝSLEDKY A DISKUSIA

V našej štúdií sme na separáciu vybraných alifatických kyselín použili HPLC v HILIC móde v kombinácii s UV detekciou. Mobilná fáza v HILIC pozostávala z acetonitrilu a vodného roztoku octanu amónneho. Na separáciu bola použitá izokratická elúcia. Študovali sme rôzne chromatografické podmienky vrátane obsahu vody v mobilnej fáze, látkovej koncentrácie octanu amónneho (iónová sila) a teploty kolóny.

Zmena zloženia mobilnej fázy mala veľký vplyv na zadržanie alifatických karboxylových kyselín v HILIC. Zvýšením obsahu vody v mobilnej fáze sa elučné časy alifatických karboxylových kyselín skracovali, nakoľko, voda v HILIC predstavuje najsilnejšie elučné činidlo. Zadržanie polárnych látok je preto so vzrastajúcim obsahom vody vo vodno-organickéj mobilnej fáze menšie. Pri zvýšení látkovej koncentrácie octanu amónneho v mobilnej fáze, došlo k zvýšeniu hodnôt retenčných faktorov alifatických karboxylových. Mohlo to byť spôsobené znížením elektrostatických interakcií medzi analytmi a stacionárnou fázou, nakoľko použitá kolóna obsahuje nabitú sulfobetainovú funkčnú skupinu.

Pri zmene teploty kolóny sme pozorovali nezvyčajné správanie kyseliny šťaveľovej, vínnej a fumarovej kedy sa ich hodnoty retenčných faktorov so zvyšujúcou sa teplotou zväčšovali. Pre ostatné analyty sa hodnoty retenčných faktorov znižovali. Toto správanie naznačuje že primárny separačný mechanizmus kyseliny šťaveľovej, vínnej a fumarovej je odlišný od primárneho separačného mechanizmu ostatných testovaných kyselín.

Na obrázku 2 je zobrazená separácia alifatických kyselín, kedy za optimálnych chromatografických podmienok bola dosiahnutá separácia s rozlíšením väčším ako 1 pre čo najväčší počet testovaných kyselín. Zo záznamu môžeme vidieť, že všetky testované kyseliny boli na kolóne zadržané a všetky, okrem kyseliny glutárovej a kyseliny jantárovej, boli odseparované. Nedostatkami vyvinutej metódy je dlhší čas separácie testovaných kyselín a tvar pík, ktorý je pre dlhšie zadržané kyseliny širší a pre posledné dve elujúce kyseliny, kyselinu vínnu a šťaveľovú, má chvostujúci charakter. Tieto nedostatky je možné upraviť zmenou stacionárnej fázy, prípadne zmenou mobilnej fázy.



Obrázok 2 Mobilná fáza: 30 mmol/l octan amónny + acetonitril (20:80 v/v); prietok mobilnej fázy 0,8 ml/min; teplota kolóny 22 °C, dávkovaný objem 10 µl; UV detekcia 215 nm. Identifikácia pík: vid' tabuľka 1, *systémový pik

ZÁVER

V tejto práci sme sa zaoberali možnosťou využitia HILIC metódy na separáciu alifatických karboxylových kyselín. Na základe zatiaľ dosiahnutých výsledkov, môžeme konštatovať, že aj napriek niektorým nedostatkom má HILIC metóda veľký potenciál v separácii malých polárnych molekúl, ktorý je potrebné naďalej rozvíjať. V budúcnosti sa preto budeme venovať štúdiu separácie polárnych látok na rôznych HILIC stacionárnych fázach a zameriame sa na separáciu alifatických kyselín, či už medicínskeho alebo potravinárskeho významu a ich stanovením v reálnych vzorkách.

PodĎakovanie

Práca vznikla za finančnej podpory Agentúry na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-17-0318 a zmluvy č. SK-KR-18-0009.

ZOZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH ODKAZOV

- [1] VAN HEES, P.A.W., VINOGRADOFF, S.I., EDWARDS, A.C., et al. Low molecular weight organic acid adsorption in forest soils: Effects on soil solution concentrations and biodegradation rates. *Soil Biology and Biochemistry*. 2003; 35: 1015-1026.
- [2] FARKAŠ, J. *Biotechnológia vína*. 2. vyd., Bratislava: Alfa, 1983. 978 s. ISBN 63-076-83.
- [3] LEHOTAY, D.C., CLARKE, J.T. Organic acidurias and related abnormalities. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 1995; 32: 377-429.
- [4] GOODMAN, L.S., GILMAN, A. *The phar-*

- macological basis of therapeutics*. 9. vyd., New York: McGraw-Hill, 1996. 1905 s. ISBN 9780070262669.
- [5] ALPERT, A.J. Hydrophilic-interaction chromatography for the separation of peptides, nucleic acids and other polar compounds. *Journal of Chromatography A*. 1990; 499: 177-196.
- [6] LINDEN, J.C. Liquid chromatography of saccharides. *Journal of Chromatography A*. 1975; 105: 125-133.
- [7] BOUMAHRAZ, M., DAVYDOV, Y.V., KISELEV, V.A. Separation of carbohydrates by liquid chromatography on silica gel, adding adsorption modifiers to the eluent. *Chromatographia*. 1982; 15: 751-756.
- [8] ORTH, P., ENGELHARDT, H. Trennung von Zuckern an chemisch modifizierten Kieselgelen. *Chromatographia*. 1982; 15: 91-96.
- [9] NIKOLOV, Z.L., REILLY P.J. Retention of carbohydrates on silica and amine-bonded silica stationary phases: application of the hydration model. *Journal of Chromatography A*. 1985; 325: 287-293.
- [10] GRECO, G., GROSSE, S., LETZEL, T. Study of the retention behavior in zwitterionic hydrophilic interaction chromatography of isomeric hydroxy- and aminobenzoic acids. *Journal of Chromatography A*. 2012; 1235: 60-67.
- [11] GUO, Y., SRINIVASAN, S., GAIKI, S. Investigating the Effect of Chromatographic Conditions on Retention of Organic Acids in Hydrophilic Interaction Chromatography Using a Design of Experiment, *Chromatographia*. 2007; 66: 223-229.
- [12] ŠKEŘÍKOVÁ, V., JANDERA, P. Effects of the operation parameters on Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography separation of phenolic acids on zwitterionic monolithic capillary columns. *Journal of Chromatography A*. 2010; 1217: 7981-7989.
- [13] JANDERA, P., VYŇUCHALOVÁ, K., NEČILOVÁ, K. Combined effects of mobile phase composition and temperature on the retention of homologous and polar test compounds on polydentate C8 column. *Journal of Chromatography A*. 2013; 1317: 49-58.
- [14] ARAL, T., ARAL, H., ZIYADANOGULLARI, B., et al. Synthesis of a mixed-model stationary phase derived from glutamine for HPLC separation of structurally different biologically active compounds: HILIC and reversed-phase applications. *Talanta*, 2015; 131: 64-73.
- [15] APPELBLAD, P., ABRAHAMSSON, P. Mass spectrometric detection of homocysteine, methylmalonic acid and succinic acid using HILIC on a zwitterionic stationary phase. *LC GC Europe*. 2005; 18 (3): 47-48.
- [16] SCHIESEL, S., LÄMMERHOFER, M., LINDNER, W. Multitarget quantitative metabolic profiling of hydrophilic metabolites in fermentation broths of β -lactam antibiotics production by HILIC-ESI-MS/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2010; 396: 1655-1679.
- [17] EHLING, S., COLE, S. Analysis of organic acids in fruit juices by liquid chromatography-mass spectrometry: An enhanced tool for authenticity testing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011; 59: 2229-2234.
- [18] KITANOVSKI, Z., GRGIĆ, I., VEBER, M. Characterization of carboxylic acids in atmospheric aerosols using hydrophilic interaction liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2011; 1218: 4417-4425.
- [19] MARRUBINI, G., PEDRALI, A., HEMSTRÖM, P., et al. 2013. Column comparison and method development for the analysis of short-chain carboxylic acids by zwitterionic hydrophilic interaction liquid chromatography with UV detection. *Journal of Separation Science*. 2013; 36: 3493-3502.
- [20] MARTÍNEZ MONTERA, C., RODRÍGUEZ DODERO, M.C., GUILLÉN SÁNCHEZ, D.A., et al. Analysis of Low Molecular Weight Carbohydrates in Food and Beverages: A Review. *Chromatographia*. 2004; 59: 15-30.
- [21] WANG, Q., FANG, Y. Analysis of sugars in traditional Chinese drugs. *Journal of Chromatography B*. 2004; 812: 309-324.
- [22] VYNIOS, D.H., KARAMANOS, N.K., TSIGANOS, C.P. Advances in analysis of glycosaminoglycans: Its application for the assessment of physiological and pathological states of connective tissues. *Journal of Chromatography B*. 2002; 781: 21-38.
- [23] NOVOTNY, M.V., MECHREF, Y. New hyphenated methodologies in high-sensitivity glycoprotein analysis. *Journal of Separation Science*. 2005; 28: 1956-1968.
- [24] SCHUSTER, G., LINDNER, W. Additional investigations into the retention mechanism of

- hydrophilic interaction liquid chromatography by linear solvation energy relationships. *Journal of Chromatography A*. 2013; 1301: 98-110.
- [25] SOUKUP, J., JANDERA, P. The effect of temperature and mobile phase composition on separation mechanism of flavonoid compounds on hydrosilated silica-based columns. *Journal of Chromatography A*. 2012; 1245: 98-108.
- [26] ZHU, B.Y., MANT, C.T., HODGES, R.S. Hydrophilic-interaction chromatography of peptides on hydrophilic and strong cation-exchange columns. *Journal of Chromatography A*. 1991; 548: 13-24.
- [27] MIZZEN, C.A., ALPERT, A.J., LÉVESQUE, L. Resolution of allelic and non-allelic variants of histone H1 by cation-exchange-hydrophilic-interaction chromatography. *Journal of Chromatography B*. 2000; 744: 33-46.
- [28] GARBIS, S.D., MELSE-BOONSTRA, A., WEST, C.E. Determination of folates in human plasma using hydrophilic interaction chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*. 2001; 73: 5258-8564.

KOAGULAČNÝ ANALYZÁTOR XPRECIA – POMOC PRI MONITOROVANÍ INR PRIAMO V AMBULANCI COAGULATION ANALYSER XPRECIA – HELP IN THE INR MONITORING DIRECTLY IN AMBULANCE

LEDNICKÝ Patrik, NETRIOVÁ Jana

Fakulta zdravotníctva, Trenčianska univerzita Alexandra Dubčeka v Trenčíne, Trenčín

ABSTRAKT

Výšetrenie markera INR je neoddeliteľnou súčasťou pacientov poberajúcich liečbu kumarínovými derivátmi. V práci sme sa zapodievali zavádzaním POCT analyzátora do klinickej praxe, ktorý by mal poslúžiť pre odborné ambulancie a iné špecifické pracoviská. V experimentálnej časti sme stanovili vzorky pacientov pomocou testovaného (Xprecia) a referenčného (Sysmex CA-1500) analyzátora. Stanovovaný parameter sme podrobili spracovaniu základnými štatistickými metódami. Významnú časť predstavovalo spracovanie pomocou metódy Bland-Altmanovho grafu, ktorý nám poslúžil na odhalenie prítomnosti možnej systematickej chyby a vyhodnotenie miery zhody medzi oboma použitými analyzátormi.

Kľúčové slová: Hemostáza. Koagulácia. Antikoagulačná liečba. POCT. PT-INR

ABSTRACT

Examination of the INR marker is an integral part of patients treated with coumarin derivatives. In our bachelor degree work, we have introduced the POCT analyzer into clinical practice, which should be used for specialized outpatient clinics and other specific workplaces. In the experimental section we determined patient samples using the assayed (Xprecia) and referential (Sysmex CA-1500) analyzer. We have processed the specified parameter basic statistical methods. A significant part was processing by the method of Bland-Altman chart, which served to reveal the presence of possible systematic errors and evaluation of the degree of conformity between two used analysers.

Key words: Haemostasis. Coagulation. Anticoagulation therapy. POCT. PT-INR

ÚVOD

Hemostáza predstavuje zložitý mechanizmus s množstvom pozitívnych aj negatívnych spätných odpovedí, ktoré udržiavajú rovnováhu medzi náchylnosťou ku krvácaniu (hypokoagulácia) a zvýšenou zrážanlivosťou krvi (trombóza, hyperkoagulácia) [1, 2]. Na hemostáze sa podieľa súčasne niekoľko faktorov: cievy (vény, artérie, kapiláry), cievny systém a cievna stena, primárna hemostáza a systém plazmatických faktorov [1].

Fyziológia krvného zrážania

Významným činiteľom hemostázy je aj integrita cievneho systému, pomocou ktorého dochádza pri poranení k reflexnému spazmu arteriol a venul, čím vznikajú podmienky k vytvoreniu primárnej hemostatickej zátky, ktorej súčasťou sú aktivované trombocyty. Za bežných podmienok nedochádza k stretnutiu subendotelu s krvou. Fyziologicky sa dostávajú do kontaktu iba v prípade poranenia steny cievy. Subendotel pôsobí trombogénne a aktivuje následne systémy hemostázy. Zložky obsiahnuté v subendoteli sú predovšetkým kolagény a tkanivový faktor (TF). Povrch kolagénu má negatívny náboj, pomocou ktorého dochádza k aktivácii vnútornej koagulačnej kaskády a následne k adhézii trombocytov. To vedie k vytvoreniu väzieb medzi vWF a receptormi trombocytov, ktoré reprezentujú aktivované GP komplexy GPIIb/IIIa a GPIIb/IIIa. Prostredníctvom GP VI môže dôjsť k priamej väzbe trombocytov na kolagénové štruktúry [1, 3]. Vytvorenie primárnej cievnej zátky, resp. agregátu trombocytov, označujeme ako proces primárnej hemostázy. Narušením tvorby alebo funkcie na úrovni samotných trombocytov dôjde k ovplyvneniu alebo dokonca ku strate schopnosti riadiť zástavu krvácania.

Vďaka koagulácii dochádza k tvorbe pevného fibrinového vlákna. K tvorbe fibrinového vlákna dochádza aktiváciou kaskádovitej enzymatickej reakcie. Reakcie sú postupné, regulované a presne koordinované. Proenzýmy, faktory prítomné v krvi v ich neaktívnej forme sa pomocou predchádzajúcich enzýmov štiepia a tvoria svoju aktívnu formu. V 60. rokoch vznikla teória, ktorá rozdeľovala spôsob aktivácie koagulačnej kaskády na vnútorný a vonkajší systém. Tá tvrdila, že spúšťačom aktivácie vonkajšieho systému je TF, ktorý do krvi preniká najčastejšie v prípade poranenia. Kontaktom medzi aktívnym povrchom (obnažený kolagén – fáza kontaktu) a FXI a FXII dochádza k aktivácii

vnútornej cesty, ktorá bola pokladaná za dôležitejšiu z určených dvoch systémov [1]. Pred koncom 20. storočia vznikla nová teória, v ktorej bolo preukázané, že primárna je vonkajšia cesta, zatiaľ čo vnútorná cesta je považovaná za vedľajšiu. Táto novšia teória vraví o aktivácii koagulácie pomocou vzniknutého komplexu TF s FVII. Komplex TF/FVII následne priamo aktivuje FX na FXa (nutná prítomnosť Ca^{2+}). Pomocou stopového množstva aktivovaného FXa dochádza k urýchleniu reakcie aktiváciou FVII na FVIIa. TF-FVIIa komplex je schopný aktivovať ako FX, tak aj FIX (vďaka čomu zasahuje aj do vnútornej cesty). Spočiatku môže nastať štiepenie FVIII (bez vWF) a FV na FVIIIa a FVa. FXa je nahradený trombínom po jeho vytvorení [5]. K vzniku FXa môže dôjsť priamou aktiváciou pomocou TF/FVIIa a v prípade vnútornej cesty je FXa aktivovaný tenázou. Tenáza je komplex tvorený FIXa/FVIIIa/ PL/ Ca^{2+} . Následne po FXa sa tvorí komplex protrombínáza. Ten je fyziologickým aktivátorom protrombínu. Pozostáva z FXa/FVa/ PL/ Ca^{2+} . Takto vzniknutý komplex slúži na štiepenie neaktívneho protrombínu na α trombín a fragmenty protrombínu (F1+2) [1, 2, 4].

Aktivácia FXa komplexom TF/FVIIa hrá dôležitejšiu úlohu pri aktivácii trombocytov. Ak sa jedná o FXa aktivovaný tenázou, podporuje štiepenie fibrinogénu. Spomedzi všetkých koagulačných enzýmov je trombín jediný, ktorý je schopný štiepenia fibrinogénu na fibrín. Z reťazcov A α a B β fibrinogénu dôjde za pôsobenia trombínu k odštiepeniu fibrinopeptidu A (FPA) a fibrinopeptidu B (FPB). Odštiepením FPA a FPB z fibrinogénu vzniknú fibrinové monomery (FM), ktoré obsahujú voľné väzbové miesta v centrálnej E doméne. FM spontánne polymerizuje na rozpustný fibrín. Pôsobením FXIIIa dochádza k premene rozpustného fibrinogénu na nerozpustnú formu. Primárne tvorené koagulum z trombocytov je spevnené fibrinom, čo dáva vzniknú pevnej krvnej zrazeniny. A tým sa vlastný proces koagulácie uzatvára [1, 4, 5].

Výsledkom antitrombotickej liečby je tmenie koagulácie. Do danej skupiny spadá viacero druhov a postupností liečby: trombolytická, antikoagulačná, antiagregačná, substitučná. Cieľom antikoagulačnej liečby je zabrániť vzniku trombínu, následkom čoho by nemalo dochádzať k premene fibrinogénu na fibrín, čo by malo blokovat tvorbu ďalšieho trombu. Tá pozostáva z parenterálnej liečby heparínom a perorálnej liečby derivátmi dikumarolu [6].

Antikoagulačná liečba

Antikoagulačná liečba pomocou nepriamych antikoagulancií je zabezpečená kumarínovými derivátmi. V súčasnosti je najčastejšie používaný warfarín. Účinkom je zabránenie recyklácie aktívnej formy vitamínu K, čím dochádza k inhibícii syntézy koagulačných faktorov závislých od tohto vitamínu v pečeni FII, FVII, FIX a FX, ako aj proteínu C a S. Warfarín je podávaný hlavne pri liečbe, ktorá trvá dlhšie časové obdobie [6]. Význam nepriamych antikoagulancií spočíva v ich úplnom vstrebávaní perorálnym podávaním, pričom maximálna koncentrácia v plazme je dosiahnutá za dobu 1-9 hodín. Až 97 % látky sa viaže na albumín plazmy, z toho biologicky účinná je iba voľná frakcia. Po podaní liečiva trvá doba účinku 4-6 dní. Biotransformácia sa odohráva v pečeni, respektíve v pečňových bunkách, hepatocytoch. K eliminácii metabolitov dochádza primárne v obličkách [1]. Účinkom kumarínových antikoagulancií dochádza k ireverzibilnej inhibícii vitamín K-epoxidreduktázy, ako aj jej chinonreduktázovej aktivity. Týmto účinkom dochádza k zabráneniu recyklácie hydrochinonovej formy vitamínu K, vďaka čomu je v organizme navodený stav jeho nedostatku [6]. Jednou z nevýhod kumarínových derivátov je ich častá interakcia, na ktorej sa podieľajú rôzne farmakokinetické aj farmakodynamické mechanizmy. Interakcie môžeme rozdeliť na liekové a neliekové, resp. potravinové [7].

Nové orálne antikoagulanciá (NOAC) je skupina liečiv, ktoré svojím účinkom pôsobia buď priamo na trombín alebo na FXa. NOAC boli testované v kontrolovaných štúdiách, ktoré preukázali ich očakávané výhody oproti starým, avšak ešte vo veľkej miere používaným nepriamym antikoagulanciám [8].

Laboratórna diagnostika protrombínového času

Protrombínový čas je jedno zo základných skupinových hemokoagulačných vyšetrení. Z anglického prekladu vznikla skratka – PT-prothrombin time. Jedná sa o skupinový koagulačný test, ktorý sleduje vnútornú cestu aktivácie koagulačnej kaskády, kde po pridaní tromboplastínu a vápenatých iónov do sledovanej plazmy dochádza k tvorbe fibrinového vlákna. Ak daný proces tvorby vlákna trvá dlhší čas, viac ako 11-13 sekúnd, s veľkou pravdepodobnosťou sa môže jednať o deficit niektorého faktora vnútornej cesty. Preto je závislý od faktorov zrážania FVII, FX, FV a FI (fibrinogénu) [1, 6]. Vy-

šetrenie slúži na monitorovanie pacientov užívajúcej warfarínovú liečbu. Pomocou laboratórneho stanovenia PT, sledujeme aktivitu faktorov zrážania FII, FV, FVII, FX a fibrinogénu [6]. Výsledok PT sa udáva predovšetkým v sekundách alebo pomerom k štandardnej plazme. Spolu s vyšetrením PT úzko súvisí aj stanovenie INR, z angl. International Normalised Ratio – Medzinárodný Normalizovaný Pomer. Toto vyšetrenie aj výpočet navrhla Svetová zdravotnícka organizácia (WHO), obsahujú pomer hodnoty PT pacienta a MNPT (mean of the normal range). Vyšetrenie INR bolo zavedené, aby výsledky pri stanoveniach PT nevykazovali prílišné rozdiely, nakoľko laboratória využívajú rôzne trombolastíny a tým dochádza k odlišným hodnotám [9].

Vzorec pre výpočet:

$$\text{INR} = \left(\frac{\text{PT pacienta}}{\text{MNPT}} \right)^{\text{ISI}}$$

MNPT je daný geometrickým priemerom PT zdravej populácie. Pre zvýšenie spoľahlivosti testovania INR sa zaviedol aj tzv. ISI index alebo aj International Sensitivity Index. Index ISI je zostavený zo skupiny dát zdravých pacientov a pacientov stabilizovaných na warfarínovej liečbe. Je to funkcia porovnávajúca daný trombolastinový reagens s medzinárodným WHO štandardom [9].

POCT – Point of care testing

Point of care testing (POCT) je skupina vyšetrení, ktorých stanovenie prebieha v reálnom čase pomocou prenosných analyzátorov a súpravou rýchlej diagnostiky pri lôžku pacienta [10, 11]. POCT metódy si vyžadujú dostatočne vyškolený personál, kompetencie, validáciu metód a porovnávanie výsledkov.

Značnú pomoc pri manažmente diagnostiky INR pomocou POCT podáva aj v súčasnosti rozšírená telemedicína alebo telecare (súčasť eHealth – elektronické zdravotníctvo). Diagnostika môže byť vykonaná pacientom v pohodlí domova, ktorý bol avšak pred používaním prenosného analyzátoru oboznámený so správnou manipuláciou. Výsledky bývajú zaslané do centra a vyhodnotené kompetentným personálom [12].

V súčasnosti je k dispozícii niekoľko POCT analyzátorov na meranie INR priamo z kapilárnej krvi. Jednparametrový analyzátor CoaguChek XS firmy Roche, Xprecia Stride firmy Siemens Healthineers, analyzátor ProTime, navrhnutý spoločnosťou International Technidyne Corporation alebo multipara-

metrové POCT analyzátor rady Smart a Cube firmy Eurolyser.

Cieľ práce

Cieľom predkladanej práce je overenie miery zhody výsledkov INR pomocou prenosného POCT analyzátoru Xprecia Stride určeného na analýzy mimo laboratória s výsledkami veľkokapacitného automatického analyzátoru Sysmex CA-1500 používaného v laboratóriu.

Materiál a metódy

Odbery a následná analýza vzoriek pacientov boli uskutočnené počas študentskej praxe od júna do augusta roku 2016. Pacientom bola odobratá venózna krv zo žilovej jamky pravej alebo ľavej ruky do skúmavky obsahujúcej citrát sodný S-MONOVETTE® (kat. číslo 05.1165). Pred stanovením INR boli krvné elementy oddelené od plazmy centrifugáciou po dobu 15 minút pri preťažení 1 500 x g.

Odbor kapilárnej krvi na stanovenie INR pomocou analyzátoru Xprecia Stride bol robený hneď po odbere žilovej krvi z bruška prsta druhej ruky priamo na reagenčný testovací pásik.

Získané dáta boli deidentifikované tak, aby bola zaručená ochrana osobných údajov pacientov.

Zariadenia a reagensie

Na stanovenie a následné porovnávanie výsledkov pacientov boli použité dva typy analyzátorov. Kompaktný POCT analyzátor Xprecia Stride určený na rýchlu diagnostiku a veľkokapacitný automatizovaný analyzátor Sysmex CA-1500. Oba tieto analyzátor (Obr. 1) sú skonštruované firmou Siemens Healthineers a využívajú rovnaké reagensie.



Obrázok 1 Analyzátor Xprecia Stride, Analyzátor Sysmex CA-1500

Xprecia Stride

Analyzátor Xprecia Stride slúži na stanovenie PT a monitorovanie hodnoty INR počas medikamentózneho liečenia pacienta kumarínovými preparátmi (Warfarín). Na analýzu postačuje malý objem kapilárnej krvi (6 μ l). Rozsah stanovenia INR je v rozmedzí 0,8 až 8,0. V prípade zvýšenej alebo zníženej hodnoty je hodnota uvedená ako hodnota mimo rozsah merania. Reakcia prebieha na reakčných prúžkoch – stripoch, ktoré obsahujú vopred pripravené reagencie Dade Innovin. Tieto reagencie pozostávajú z purifikovaného rekombinantného ľudského TF, kombinovaného so syntetickými PL, Ca a stabilizátormi [14].

Pozitívom prístroja je jeho bezpečná manipulácia s biologickým materiálom. Použitie prúžky je možné bez dotyku, stlačením bočného tlačidla, vysunúť z prístroja.

Výhodou analyzátoru je schopnosť elektronickej kontroly kvality (EQC). Prístroj automaticky vykoná 2 kontrolné kontroly kvality po vložení testovacieho prúžku. Tie sú navrhnuté tak, aby bola zabezpečená integrita testovacích stripov. Prvá kontroluje prítomnosť primeraného činidla na vzorku a druhá kontrola má za úlohu detegovať možnú degradáciu testovacích prúžkov, ktoré môžu byť vystavené vonkajším vplyvom prostredia. Povinná je aj

pravidelná kalibrácia podľa pokynov výrobcu alebo ak kontroly sú mimo doporučeného rozsahu.

Pracovný postup pri použití analyzátoru Xprecia

Práca s analyzátorom je nenáročná a pozostáva z nasledujúcich krokov (Obr. 2):

1. spustenie procesu analýzy pomocou dotykového displeja,
2. zosnímanie identifikačného čísla pacienta alebo pridelenie vlastného poradového čísla,
3. zosnímanie stripu pripraveného na použitie,
4. vloženie stripu kontaktným koncom do analyzátoru Xprecia,
5. zosnímanie nádoby pre stripy,
6. príprava vloženého stripu na test približným 30 sekundovým zohrievaním,
7. pomocou jednorázovej lancety nasleduje odoberanie kapilárnej krvi z vopred dezinfikovaného bruška na prste pacienta (zotretie prvej vzniknutej kvapky krvi),
8. aplikácia kvapky krvi na cieľovú oblasť testovacieho stripu,
9. priebeh samotnej analýzy vzorky kapilárnej krvi (max. 2 minúty),
10. vyhodnotenie výsledku vo forme INR (možnosť prepočtu na PT alebo sekundy)
11. bezpečné odstránenie použitého kontaminovaného stripu



Obrázok 2 Analyzátor Xprecia – prezentácia vybraných bodov z postupu stanovenia: a) bod 4, b) bod 5, c) bod 8, d) bod 10, e) bod 11

Sysmex CA-1500

Jedná sa o viac parametrový, vysokokapacitný a plne automatizovaný analyzátor. Stanovenie je založené na princípe chromogénnych, imunologických a koagulometrických metód. Na meranie využíva monochromatické žiarenie o vlnovej dĺžke 660 (červené spektrum). Na stanovenie parametra INR bola použitá reagentia Thromborel S s rovnakým zložením ako Dade Innovin a ako v predchádzajúcom prípade pochádzala od firmy Siemens.

Výsledky

Na zistenie miery zhody testovaného POCT analyzátoru Xprecia Stride sme podrobili testovaniu 164 pacientov. Ako referenčný analyzátor poslužil koagulačný analyzátor Sysmex CA-1500 používaný v rutínnej praxi laboratória už sedem rokov.

Zo sledovaného počtu bolo 97 (59,14 %) mužov a 67 (40,85 %) žien. Vekový priemer mužov a žien sa pohyboval na úrovni $62,99 \pm 16,23$ roka. Najmladším testovaným pacientom bola iba 19 ročná žena a naopak, najstarší sledovaný pacient pre hodnotu INR mal 92 rokov.

Z celkového testovaného súboru bolo nutné pre správne určenie presnosti merania vyradiť až 70 vzoriek (42,68 %). Týchto 70 pacientov – respondentov, nespĺňalo kritéria pre laboratórne stanovenie INR (neužívali kumarínové preparáty alebo bolo požadované INR v rámci predoperačných vyšetrení, čo je nesprávne – má sa hodnotiť PT-R, vzorka na stanovenie bola hemolytická).

Po vylúčení respondentov, ktorí nespĺňali kritérium kumarínovej liečby sa počet respondentov zredukoval na 94. Z tohto počtu bolo 61 mužov (64,89 %) skupina M-1 a 33 žien (35,10 %) skupina Ž-1 (tabuľka 1). Priemerný vek sledovaných žien bol $70,75 \pm 9,97$ roka a priemerný vek sledovaných mužov bol $70,62 \pm 9,42$ roka.

Liečba kumarínovými preparátmi je podávaná pri poruchách koagulácie a pri predchádzaní hyperkoagulačného stavu. Výberovým kritériom bola antikoagulačná liečba Warfarinom. Najčastejšie sa vyskytovali diagnózy zo skupiny I00-I99. Ide o choroby obehovej sústavy. Vo výberovom súbore bolo 65 (69,14 %) respondentov s týmto ochorením. Priemerná hodnota laboratórných meraní pomocou použitého referenčného automatizovaného viacparametrového koagulačného analyzátoru Sysmex CA-1500, bola u žien $2,49 \pm 0,73$ s najčastejšie opakujúcou sa hodnotou 2,27. U mužov bola priemerná hodnota o niečo vyššia. Tá predstavovala hodnotu $2,60 \pm 0,74$ s najviac vyskytujúcou sa hodnotou 2,49. Spoločný priemer oboch pohlaví sa rovnal hodnote $2,56 \pm 0,74$. Minimálna hodnota pre obe pohlavia sa rovnala 1,10, pričom najvyššia nameraná hodnota bola 5,10 (tabuľka 2).

U tejto skupiny pacientov bolo INR merané aj pomocou POCT analyzátoru Xprecia Stride z kapilárnej krvi. Namerané dáta sú zhrnuté v tabuľke 3.

U žien bola priemerná hodnota $2,39 \pm 1,03$ a MOD = 2,1. U mužov (vo väčšinovom zastúpení) bola priemerná hodnota $2,68 \pm 1,02$, pričom opakujúca hodnota bola 2,4. Priemer hodnôt pre VSP

Tabuľka 1 Veková štruktúra vybraných respondentov užívajúcich warfarín

	n	Vek [roky]					
		\bar{x}	SD	MED	MOD	MIN	MAX
Ž-1	33	70,75	9,97	71	66	43	92
M-1	61	70,62	9,42	73	74	38	86
Spolu	94	70,67	9,56	73	66	38	92

Legenda: n – počet, \bar{x} – aritmetický priemer, SD – smerodajná odchýlka, MED – medián, MOD – modus, MIN – minimálna hodnota, MAX – maximálna hodnota, Ž-1 – ženy liečené pomocou kumarínových derivátov, M-1 – muži liečení pomocou kumarínových derivátov

Tabuľka 2 Výsledky laboratórných meraní prístrojom Sysmex CA-1500 pre M-1 a Ž-1

	n	INR (Sysmex CA-1500)					
		\bar{x}	SD	MED	MOD	MIN	MAX
Ž-1	33	2,49	0,73	2,38	2,27	1,10	4,89
M-1	61	2,60	0,74	2,49	2,49	1,18	5,10
Spolu	94	2,56	0,74	2,45	2,27	1,10	5,10

Legenda: n – počet, \bar{x} – aritmetický priemer, SD – smerodajná odchýlka, MED – medián, MOD – modus, MIN – minimálna hodnota, MAX – maximálna hodnota, Ž-1 – ženy liečené pomocou kumarínových derivátov, M-1 – muži liečení pomocou kumarínových derivátov

Tabuľka 3 Výsledky laboratórných meraní prístrojom Xprecia pre skupinu M-1 a Ž-1

	n	INR (Xprecia Stride)					
		\bar{x}	SD	MED	MOD	MIN	MAX
Ž-1	33	2,39	1,03	2,10	2,1	1,00	6,10
M-1	61	2,68	1,02	2,50	2,4	1,20	6,80
Spolu	94	2,58	1,03	2,40	1,8	1,00	6,80

Legenda: n – počet, \bar{x} – aritmetický priemer, SD – smerodajná odchýlka, MED – medián, MOD – modus, MIN – minimálna hodnota, MAX – maximálna hodnota, Ž-1 – ženy liečené pomocou kumarínových derivátov, M-1 – muži liečení pomocou kumarínových derivátov

(muži aj ženy spolu) bol $2,58 \pm 1,03$. Minimálna hodnota bola 1.

Na porovnanie miery zhody z meraní PT u pacientov liečených kumarínovými preparátmi medzi referenčným analyzátorom CA-1500 a testovaným prístrojom Xprecia Stride, sme na vyhodnotenie, okrem základných štatistických metód, použili grafické znázornenie pomocou dvojrozmerného grafu podľa Bland-Altmana. Táto metóda má význam v prípade, ak porovnáваме zhodu dvoch vyšetровacích laboratórných metód.

Rozdiely medzi hodnotami (ďalej len „h“) z referenčného analyzátoru Sysmex CA-1500 (h2) a testovaného prístroja Xprecia Stride (h1) sme aplikovali na os Y (h1-h2). Priemer hodnôt z oboch meraní sme naniesli na os X (h1+h2)/2.

Vďaka vzniknutým bodom v Bland-Altmanovom grafe môžeme odhaliť prítomnosť systematickej chyby (nazývanej aj bias) a takisto aj vyhodnotiť mieru zhody nami použitých analyzátorov.

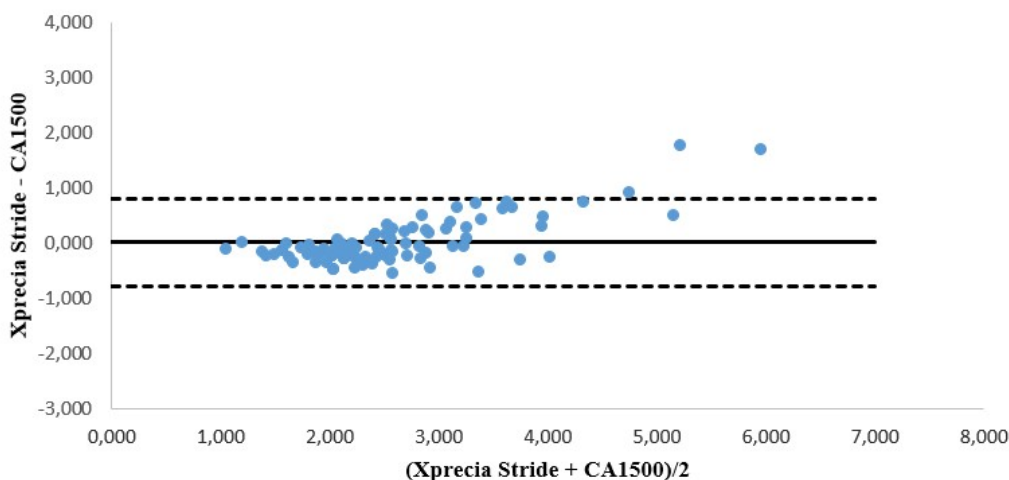
Hlavná kontrolná čiara, ktorá je priemernou hodnotou medzi oboma metódami (\bar{x}_d = priemerná diferenciacia) bola 0,015. Nasledujúce dve kontrolné čiary, slúžiace ako limit zhody sme znázornili ako 1,96-násobok SD oboch použitých metód. Horná

kontrolná čiara sa nachádzala na osi Y na úrovni 0,808 a dolná kontrolná čiara na úrovni -0,778.

Za optimálnu situáciu môžeme považovať stav, ak by sa aritmetický priemer rozdielov „priemerná diferenciacia“ (\bar{x}_d) na osi Y rovnal hodnote 0 a jednotlivé hodnoty ležali pod úrovňou čiar určujúce limity zhody. V našom prípade sa aritmetický priemer rozdielov nerovnal 0, avšak predstavoval relatívne nízku hodnotu.

Hodnoty rozdielov našich meraní medzi oboma prístrojmi mali tendenciu stúpať (graf 1) úmerne so zvyšujúcou sa veľkosťou meranej veličiny. Nanesené hodnoty v grafe tvorili podobu „lievika“, avšak môžeme pozorovať zároveň aj postupné narastanie hodnôt (kombinácia Bland-Altmanovho grafu typu C a typu D) [15]. Z celkového počtu 94 vzoriek sa napokon 3 nachádzali mimo rozsahu limitu zhody ($\pm 1,96$ sd; graf 1).

Porovnávaním nami testovaného analyzátoru Xprecia Stride a referenčného analyzátoru Sysmex CA-1500 z grafu Bland-Altmana vyplýva, že aj napriek hodnotám mimo limitu zhody pri vysokých koncentráciách je prístroj na zavedenie do praxe akceptovateľný [16].

**Graf 1** Porovnanie použitých metód pomocou Bland-Altmanovho grafu

ZÁVER

Porovnaním oboch analyzátorov za pomoci Bland-Altmanovho grafu môžeme skonštatovať, že sa nám podarilo overiť mieru zhody medzi oboma použitými metódami. Prístroj Xprecia je z hľadiska využitia v praxi akceptovateľný. Analyzátor Xprecia preto možno odporučiť odborným ambulanciám, ako systém pre rýchle monitorovanie tromboembolických stavov pacientov či správne určenie terapie. Rýchla diagnostika pomocou POCT analyzátora Xprecia by bola pozitívnym prínosom, ako pre zdravotníckeho pracovníka, tak aj pre samotného pacienta.

ZOZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH ODKAZOV

- [1] PENKA, M., TESAŘOVÁ, E., et al. *Hematologie a transfúzní lékařství I*. Praha 7: Grada Publishing, a.s., 2011, 421s., ISBN 978-80-247-3459-0.
- [2] SAKALOVÁ, A., et al. *Klinická hematologie*. Osveta, 2011, s.312, ISBN 978-80-8063-324-0.
- [3] MRÁZ, P., et al. *Anatomia I*. Slovak Academic Press s.r.o., 2015, , ISBN 978-80-89607-37-2.
- [4] SANJEEV, P., RICHA, S., ANSHU, P. Overview of the coagulation system. *Indian J Anaesth*. 2014; 58 (5): 515-523.
- [5] KUBISZ, P., et al. *Hematologie a transfuziologie*. Bratislava: Grada Slovakia spol. s.r.o., 2006, 323s., ISBN 80-247-1779-4.
- [6] PENKA M., PENKA I., GUMULEC J. a kol.: *Krvácení*, Grada, 2014, 336s., ISBN 978-80-247-0689-4
- [7] GAVORNÍK, P., DUKÁT, A., GAŠPAR, L., et al. Perorálne antikoagulanty na prevenciu a liečbu vénovej tromboembólie. *Bedeker zdravia, Praktická a preventívna kardiológia*. 2016; 70-75.
- [8] HLUŠÍ, A., SLAVÍK, L., PALOVÁ, M., et al. Nová orální antikoagulancia – pohled hematologa. *Interní Med*. 2015; 174 (4): 200-203.
- [9] PAVLOVIČ, M., PULLMANN, R. *Hematologie pre všeobecných lekárov*. Raabe, 2015, 106s., ISSN 978-80-8140-184-8.
- [10] HEALTH QUALITY ONTARIO. Point-of-Care International Normalized Ratio (INR) Monitoring Devices for Patients on Long-term Oral Anticoagulation Therapy: An Evidence-Based Analysis., *Ont Health Technol Assess Ser*. 2009; 9 (12): 1-114.
- [11] SYEDMORADI, L., DANESHPOUR, M., ALVANDIPOUR, M., et al. Point of care testing: The impact of nanotechnology. *Biosens Bioelectron*. 2017; 87: 373-387.
- [12] BARCELONA D., FENU L., et al. Point-of-care testing INR: an overview. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2017; 55 (6): 800-805.
- [13] Xprecia Stride: User guide, Siemens Healthcare Diagnostic, REF 10714618.
- [14] McCAGON, D., ROALFE, A., FITZMAURICE, D.A. An evaluation of coagulation system (Xprecia Stride) for utilisation in anticoagulation management. *J. Clin. Pathol*. 2018; 71 (1): 20-26.
- [15] MELUŠ, V., KRAJČOVIČOVÁ, Z., NETRHOVÁ, J., et al. Význam a využitie Bland-Altmanových grafov pri overovaní zhody laboratórných vyšetrovacích metód v biomedicíne., *Zdravotnícke listy*. 2016; 4 (3-4): 83-91.
- [16] PIACENZA, F., GALEAZZI, R., CARDELLI, M., et al. Precision and accuracy of the new Xprecia Stride mobile coagulometer. *Tromb Res*. 2017; 156: 51-53.

BARTONELÓZA – EPIDEMIOLOGIA A MOŽNOSTI LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKY BARTONELOSIS – EPIDEMIOLOGY AND POSSIBILITIES OF LABORATORY DIAGNOSTICS

PETRÍKOVÁ Katarína, BEDNÁROVÁ Veronika, LOGOIDA Mariia, HALÁNOVÁ Monika

Ústav epidemiológie, Lekárska fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Košice

ABSTRAKT

Východisko: Ochorenia vyvolané etiologickými agensmi z rodu *Bartonella* radíme do skupiny nových, resp. novo sa objavujúcich ochorení. Spoločenské zvieratá, ako psy a mačky, sú nezánedbateľný rezervoár pre rozvoj infekcie u ľudí. Prenos zo zvierat na ľudí sa uskutočňuje vektorom (napr. blcha, voš, kliešť).
Cieľ: Zistiť výskyt protilátok IgM proti *B. henselae* a *B. quintana* u ľudí na východnom Slovensku.

Materiál a metódy: Do súboru bolo zaradených 214 pacientov z východného Slovenska. Na detekciu bartonelových protilátok sme použili IFA test.

Výsledky: IgM protilátky proti *B. henselae* boli zistené v 72 vzorkách, a IgM protilátky *B. quintana* boli detegované v 68 vzorkách.

Záver: Na Slovensku chýbajú dáta a informácie o výskyte bartonelových infekcií, preto je potrebné zistiť ich výskyt a preskúmať príčiny ich výskytu.

Kľúčové slová: Epidemiológia. Laboratórna diagnostika. *B. henselae*, *B. quintana*.

ABSTRACT

Background: The diseases caused by *Bartonella* etiological agents belong in the emerging or reemerging diseases. Pets, such as dogs and cats, are a notable reservoir for developing human infection. The transmission from animals to humans is carried out by vector (flea, louse, ticks).

Aim: To investigate the occurrence of IgM antibodies against *B. henselae* and *B. quintana* in people in Eastern Slovakia.

Material and methods: The group included 214 patients from Eastern Slovakia. For the detection of *Bartonella* antibodies we used an indirect fluorescence antibody (IFA) test.

Results: IgM antibodies to *B. henselae* were detected in 37 samples and IgM antibodies *B. quintana* were detected in 34 samples.

Conclusion: In Slovakia data and information about occurrence of *Bartonella* infections are missing

Key words: Epidemiology. Laboratory diagnostics. *B. henselae*, *B. quintana*

ÚVOD

Rod *Bartonella* tvoria aeróbné a mikroaerofilné, gramnegatívne baktérie patriace do podskupiny alfa-2 triedy *Proteobacteria*. Doposiaľ rozoznávame 45 druhov bartonel [1].

Prítomnosť bartonel bola identifikovaná v ľudskom tkanive starom viac ako štyritisíc rokov. V minulosti boli bartonely spájané so zákopovou horúčkou, počas ktorej v 1. sv. vojne zomrelo viac ako

jeden milión vojakov. Príčinou bola baktéria *Bartonella (B.) quintana*, ktorá sa šírila kontaminovanou vodou [2]. Dnes je najčastejším ochorením spojeným s bartonelovými infekciami u imunokompetentných pacientov choroba z mačacieho poškrabania (Cat scratch disease – CSD), ktorá je charakterizovaná regionálnou lymfadenopatiou sprevádzanou inými nešpecifickými prejavmi, ako je horúčka alebo únava. Vyvolávateľom tohto ochorenia je *B. henselae* [3]. CSD je zvyčajne „self-limited“ infekcia, avšak sú popísané aj prípady s dlhotrvajúcim priebehom spôsobeným inými druhmi *Bartonella*, ako je napr. *B. clarridgeiae* [4].

Bartonelóza je novo sa objavujúce ochorenie s celosvetovým výskytom. Preto sa museli po znovu objavení bartonelových infekcií početné klinické, mikrobiologické a patologické koncepcie týkajúce sa príčinnej súvislosti ochorenia a mikrobiálnej patogenézy postupne predefinovať. Medicínska dôležitosť rodu sa aj naďalej podrobuje ďalšiemu skúmaniu, pretože sa rozširujú informácie o etiologických agens, imunitnej odpovedi hostiteľa, o senzitivite a špecifite diagnostických testov, účinnosti liečby i epidemiológii.

Epidemiológia

Aj napriek tomu, že infekcie spôsobené druhmi *Bartonella* spp. sú prakticky ubikvitárne, väčšina druhov bola objavená len nedávno. Je pozoruhodné, že výskyt infekcie môže dosiahnuť približne 50 % u divých mačiek a hlodavcov a až 90 % u voľne žijúcich prežúvavcov [5]. Okrem týchto dôkladne preskúmaných skupín zvierat boli bartonelové infekcie hlásené u ďalších hostiteľov, ako sú netopiere, vodné cicavce (belugy) a dokonca aj stavovce (morské korytnačky). Napriek určitým geografickým rozdielom, ktoré sa zhodujú s vektorovou ekológiou, je zrejmé, že bartonelové infekcie patria medzi najrozšírenejšie bakteriálne infekcie na celom svete [3]. Bartonely sú prítomné u rôznych druhov cicavcov, ktoré slúžia ako rezervoár zoonotických infekcií. Avšak väčšina ľudských chorôb je spôsobená len tromi druhmi *B. henselae*, *B. quintana* a *B. bacilliformis*.

B. henselae, ktorej rezervoárom sú mačky, sú gramnegatívne, aeróbne, nepohyblivé, fakultatívne intracelulárne baktérie o veľkosti 0,3-0,6 x 0,3 – 1,0 µm. Sú všeobecne známe ako najbežnejší druh, ktorý infikuje ľudí a spôsobuje CSD. V roku 1992 bol tento druh po prvýkrát izolovaný u HIV+ pacienta [6]. Prenos medzi mačkami je buď uhryznutím alebo orálno-fekálne. Prenos *B. henselae* na človeka je nepriamo, predovšetkým poškriabaním mačkami a len veľmi zriedkavo uhryznutím [7]. Priamy prenos *B. henselae* na človeka sa nepotvrdil [8].

B. quintana je fakultatívna, intracelulárna, gramnegatívna tyčinka široká 0,3 – 0,5 µm a dlhá 1 – 1,7 µm. Je príčinou zákopových horúčok; baktéria je tiež známa ako pôvodca bakteriémie, bacilárnej angiomatózy, chronickej lymfadenopatie a je najčastejším druhom *Bartonella* spôsobujúcim endokarditídu. *B. quintana* je na človeka prenášaná všou *Pediculus humanus* [9].

B. bacilliformis je gramnegatívna aeróbna, pleomorfna, pohyblivá, fakultatívna, intracelulárna baktéria, dlhá 2 – 3 µm a široká 0,2 – 0,5 µm. Infekcie spôsobené *B. bacilliformis* majú dve fázy – akútnu a chronickú. Horúčka Oroya je akútna hemolytická anémia ohrozujúca život. Chronická forma infekcie *B. bacilliformis* vedie k angiogénnym léziám na koži nazývaných *Verruga peruana* [10].

LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA

Izolácia a kultivácia

B. henselae, a s najväčšou pravdepodobnosťou aj ostatné novo rozpoznané druhy bartonel spojené s ľudským ochorením, pri primárnej izolácii vyžadujú špecifické rastové médium a predĺžené inkubačné časy. Endokarditídu spôsobenú *Bartonella* spp. diagnostikujeme na základe pozitívnej kultivácie. Zatiaľ čo pri diagnostike bartonelovej endokarditídy má hemokultivácia citlivosť 20 %, tak pri kultivácii tkanív chirurgicky vyrezaných chlopni je citlivosť 30 % [11].

Imunohistochemia je vhodný nástroj na detekciu baktérie *B. quintana* v tkanivách. Pozitívna detekcia bola hlásená v srdcových chlopiach a v kožných biopsiách u pacientov s bacilárnou angiomatózou. V imunohistochemických testoch sú druhy *Bartonella* u pacientov s bacilárnou angiomatózou pozorované v proliferatívnych endotelialných bunkách lokalizovaných v hornej retikulárnej dermis [12].

B. quintana môže byť detegovaná v erythrocytoch pomocou imunofluorescencie. Baktérie sú pozorované v tenkých náteroch z čerstvej krvi za použitia monoklonálnych protilátok. Pozitívne titre vyššie ako 1:50 indikujú bartonelovú infekciu, vyššie ako 1:800 predikujú endokarditídu [13]. Výskyt *B. quintana* v erythrocytoch môže byť potvrdený tiež konfokálnou mikroskopiou [14].

Diagnostika molekulovými metódami

PCR nie je len jednou z hlavných metód diagnostiky bartonelových infekcií, ale zohrávala rozhodujúcu úlohu pri plnení molekulárnych Kochových postulátov s cieľom spájať *Bartonella* spp. s novými syndrómami ochorenia. Testovanie pomocou PCR môžeme použiť tiež na vzorkách celej krvi, plazmy alebo séra, pričom štúdie vykazujú citlivosť 58 % a špecificitu 100 % [15].

Cieľ práce

Cieľom našej štúdie bolo zistiť výskyt protilátok IgM proti *B. henselae* a *B. quintana* u ľudí na východnom Slovensku.

Súbor a metodika

Na sérologické vyšetrenie bartonelových protilátok proti *B. henselae* a *B. quintana* boli použité krvné séra od 214 pacientov z východného Slovenska. Pacienti boli vo veku od 18 do 55. Na detekciu protilátok sme použili komerčný IFA test (Focus Diagnostics, USA).

Výsledky

Z 214 vyšetrených pacientov boli IgM protilátky proti *B. henselae* detegované u 72, čo predstavuje 33,6 % pozitivitu. IgM protilátky proti *B. quintana* sa vyskytli v 68 (31,8 %) prípadoch.

Tabuľka 1 Výskyt protilátok IgM proti *B. henselae* a *B. quintana* vo vyšetrovanej skupine

	N	%
IgM <i>B. henselae</i>	72	33,6
IgM <i>B. quintana</i>	68	31,8

Záver

Od začiatku deväťdesiatych rokov bolo charakterizovaných niekoľko druhov a poddruhov rodu *Bartonella* a spektrum prírodných rezervoárov, vektorov a humánnych ochorení spôsobených týmito druhmi sa výrazne rozšírilo.

B. henselae sa vyskytuje endemicky na celom svete a prenos na ľudí mačkami je potvrdený tak sérologickými, ako aj epidemiologickými štúdiami. Mačky infikované *B. henselae* môžu predstavovať významné riziko pre ľudí, u ktorých sa v dôsledku infekcie môže rozvinúť bacilárna angiomatóza a CSD.

B. quintana môže predstavovať riziko pri transfúzii krvi. V ostatnom období boli druhy *Bartonella* zistené u 3,2 % asymptomatických darcov krvi z Brazílie [16].

V štúdiu uskutočnenú v r. 2003 v San Franciscu na 382 pacientoch bolo na základe kultivácie, PCR alebo IFA testu detegovaných 66 (17 %) pozitívnych vzoriek na bartonelové infekcie [17]. V inej štúdiu z r. 2017, ktorá prebehla v španielskom Katalánsku na 340 pacientoch, bolo na prítomnosť bartonelovej infekcie pozitívnych 22,3 % pacientov [18].

V našej práci prezentujeme doposiaľ zistené výsledky, týkajúce sa výskytu bartonelových protilátok u ľudí žijúcich na východnom Slovensku. Nami zistená pozitivita je v porovnaní s podobnými štúdiami vyššia. Vzhľadom na rozdielne výsledky medzi štúdiami a celkový nedostatok mikrobiologických údajov v klinických a terapeutických štúdiách sa vyskytli mnohé problémy súvisiace s diagnostikou a následnou terapiou nielen u ľudí, ale tiež u infikovaných zvierat. Je preto potrebné venovať sa ďalšiemu skúmaniu bartonelových infekcií v populácii a študovaniu asociácií výskytu bartonelových protilátok u ľudí a zvierat.

Pod'akovanie

Práca vznikla v súvislosti s riešením grantovej úlohy APVV-15-0134 a VEGA MŠVVaŠ SR č. 1/0084/18.

ZOZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH ODKAZOV

- [1] OKARO, U. et al. Bartonella species, an emerging cause of blood-culture-negative endocarditis. *Clin Microbiol Rev.* 2017; 30: 709-746.
- [2] ANSTEAD, G.M. The centenary of the discovery of trench fever, an emerging infectious disease of World War 1. *Lancet Infect Dis.* 2016; 16: e164-e172.
- [3] HARMS, A., DEHIO, Ch. Intruders below the Radar: Molecular Pathogenesis of Bartonella spp. *Clinical Microbiology Reviews.* 2012; 5 (1): 42-78.
- [4] KORDICK, D.L., et al. Bartonella clarridgeiae, a newly recognized zoonotic pathogen causing inoculation papules, fever, and lymphadenopathy (cat scratch disease). *J Clin Microbiol.* 1997; 35: 1813-1818.
- [5] CHOMEL, B.B., et al. Prevalence of Bartonella infections in domestic cats in Denmark. *Vet Res.* 2002; 33: 205-213.
- [6] DEMERS, D.M., et al. Cat-scratch disease in Hawaii: etiology and seroepidemiology. *J Pediatr.* 1995; 127: 23-26.
- [7] REGNER, R.L., et al. Characterization of a novel Rochalimaea species, R. henselae sp. nov., isolated from blood of a febrile, human immunodeficiency virus-positive patient. *J Clin Microbiol.* 1992; 30: 265-274.
- [8] BREITSCHWERDT, E.B., KORDICK, D.L. Bartonella infection in animals: carriership, reservoir potential, pathogenicity, and zoonotic potential for human infection. *Clin Microbiol Rev.* 2000; 13: 428-438.
- [9] LEIBLER, J.H., et al. Zoonotic and vector-borne infections among urban homeless and marginalized people in the United States and Europe, 1990–2014. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2016; 16: 435-444.
- [10] HUARCAYA, E., et al. Bartonellosis (Carrión's disease) in the pediatric population of Peru: an overview and update. *Braz J Infect Dis.* 2004; 8: 331-339.
- [11] HOUPIKIAN, P., RAOULT, D. Blood culture-negative endocarditis in a reference center: etiologic diagnosis of 348 cases. *Medicine (Baltimore).* 2005; 84:162-173.
- [12] GASQUET, S., et al. Bacillary angiomatosis in immunocompromised patients. *AIDS.* 1998; 12: 1793-1803.
- [13] FOUCAULT, C., et al: Bartonella quintana Characteristics and Clinical Management. *Emerging Infectious Diseases.* 2006; 12 (2): 217- 223.
- [14] ROLAIN, J.M., et al. Bartonella quintana in human erythrocytes. *Lancet.* 2002; 360: 226-228.
- [15] SANOGO, Y.O., et al. Bartonella henselae in Ixodes ricinus ticks (Acari: Ixodida) removed from humans, Belluno province, Italy. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9: 329-332.
- [16] DINIZ, P.P., et al. Risk factors for Bartonella species infection in blood donors from Southeast Brazil. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016; 10: e0004509.

- [17] KOEHLER, J.E., et. al. Prevalence of Bartonella Infection among Human Immunodeficiency Virus – Infected Patients with Fever. *Clinical Infectious Diseases*. 2003; 37 (4): 559-566.
- [18] PONS, I., et. al. Seroprevalence of Bartonella spp. infection in HIV patients in Catalonia, Spain. *BMC Infectious Diseases*. 2008; 8:58.

**CHYBY A OMYLY V ONKOGENETIKE KARCINÓMU PRSNÍKA
A PLATNÉ INDIKAČNÉ KRITÉRIÁ
ERRORS AND MISCONCEPTIONS IN ONCOGENETICS OF BREAST CANCER
AND VALID INDICATION CRITERIA**

COPÁKOVÁ Lucia

GenVias s.r.o. – diagnostické centrum lekárskej genetiky, Bratislava

ABSTRAKT

Ročne je v SR diagnostikovaných 3000 nových prípadov karcinómu prsníka. Stále viac z týchto novodiagnostikovaných karcinómov pripadá na mladé ženy, ktoré predtým v rodine nemali potvrdený výskyt onkologického ochorenia. Zarážajúcim faktorom je, že mnohé pacientky s karcinómom prsníka alebo vaječníkov majú podľa platných indikačných kritérií nárok na genetickú analýzu, ale ošetrujúci špecialista ich na genetickú konzultáciu neodporúča. Indikačné kritériá pre testovanie dedičného karcinómu prsníka a vaječníkov, platné pre Slovenskú republiku, prešli svojím vývojom a v dnešnej podobe definujú tri skupiny pacientov s nárokom na genetické vyšetrenie. Prvým závažným omylom v problematike dedičného karcinómu prsníka je nepravdivá informácia, že na ženy bez pozitívnej rodinnej anamnézy sa nevzťahuje riziko hereditárnej formy karcinómu. Druhým závažným omylom pri testovaní familiárnej formy karcinómu prsníka je, že význam má len genetická analýza vybraných dvoch génov *BRCA1*, *BRCA2*. Tretím závažným omylom je, že samotné vyšetrenie trvá štandardne viac ako 6 mesiacov.

Kľúčové slová: Indikačné kritériá. Tri skupiny pacientov. Panel génov. Časový interval genetickej analýzy. Päť typov variantov

ABSTRACT

Approximately 3000 new cases of breast cancer are diagnosed in the Slovak Republic every year. Increasing number of these newly diagnosed carcinomas are among young women with no previously confirmed oncological disease in the family. Surprisingly, many patients with breast or ovarian carcinoma are entitled to genetic analysis in line with valid indication criteria; however, the respective specialist does not recommend them for genetic consultations. Concerning Slovak Republic, the indication criteria for testing of breast and ovarian carcinoma have been developing and currently comprise three groups of patients eligible for genetic testing. The first significant mistake regarding the issue of hereditary breast cancer is the false assumption that women without a positive family history are not at risk of hereditary form of carcinoma. The second important mistake concerning testing of familial form of breast cancer is that genetic analysis of only two selected genes (*BRCA1*, *BRCA2*) is relevant. The third crucial mistake is that the examination normally takes more than 6 months.

Key words: Indication criteria. Three groups of patients. Gene panel. Time interval of genetic analysis. Five types of variants

ÚVOD

Genetika má v súčasnosti široké pole svojho pôsobenia, je neodmysliteľnou súčasťou správnej komplexnej diagnostiky a ďalšieho manažmentu pacientov. Okrem prediktívneho testovania, zameraného na selekciu jedincov vo vysokom riziku, umožňuje vo vybraných prípadoch definovať optimalizované liečebné postupy cestou tzv. personalizovanej liečby.

Prediktívne testovanie a úloha lekárskeho genetika

V prípade prediktívneho testovania je kľúčové zapojenie interdisciplinárnej spolupráce a odoslanie pacienta do ambulancie lekárskej genetiky. Úloha lekárskeho genetika je definovaná v Koncepcii odboru lekárska genetika [1-3]. Lekársky genetik uskutočňuje včasný záchyt geneticky podmienených stavov, vrátane hereditárne podmienených malignít a identifikuje prenášačov v rodinách. Poskytuje genetické konzultácie so stanovením genetickej prognózy. Konzultuje najvhodnejší spôsob manažmentu geneticky determinovaného ochorenia, navrhuje optimálny dispenzarizačný plán a liečbu s cieľom redukcie rizika jednotlivých dedične podmienených ochorení.

Ťažiskom genetickej konzultácie je interaktívny rozhovor s pacientom. Lekár – genetik indikuje na základe osobnej a rodinnej anamnézy, vypracovanej genealógie a posúdenia fenotypu, vhodný typ laboratórnych testov.

Výsledkom predanalytickej genetickej konzultácie, ktorá je spojená s podpísaním informovaného súhlasu pacienta o genetickom testovaní, je odber periférnej krvi určenej na analýzu DNA.

Postanalytickú fázu prediktívneho testovania predstavuje opäť konzultácia výsledku genetického vyšetrenia klinickým genetikom a vypracovanie záverečnej lekárskej správy s odporúčaním celoživotných sledovaní, prípadných profylaktických chirurgických zákrokov.

The American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) vypracovalo štandardné postupy a odporúčania pre záverečnú interpretáciu výstupov z genetickej analýzy sekvenačných variantov [4]. V novej terminológii sekvenačných variantov sa vyskytuje definícia piatich tried (obrázok 1).

Nová éra testovania formou sekvenovania druhej generácie – NGS, ktorá so sebou priniesla možnosti testovania panelu génov, exómu, genómu prípadne transkriptómu ide ruka v ruke s výzvou, čo najlepšej a najpresnejšej interpretácie nájdených genetických zmien – variantov, na základe dostupných informácií. Nález variantov s neznámym klinickým významom so sebou v mnohých smeroch prináša interpretačné rozpaky [5, 6]. Odborné odporúčania definujú potrebu pravidelného prehodnocovania týchto variantov s časovým odstupom a možnosťou ich rekvifikácie do skupiny IV/V alebo I/II. Okrem štandardne využívaných databáz HGMD, HGVS, ClinVar, NCBI je v mnohých prípadoch nevyhnutné využitie *in silico* prediktívnych softvérov SIFT, MutationTaster, PolyPhen-2 ako aj segregáčnej analýzy rodinných príslušníkov [4].

Karcinóm prsníka a kandidátne gény

V oblasti dedičného karcinómu prsníka sa rozšíril okruh kauzálnych génov asociovaných s patologickým fenotypom karcinómu prsníka. Do tejto skupiny patria gény vysokého, stredného rizika a nízkeho rizika.

Podľa európskeho konsenzu panelu expertov pre testovanie génov spojených s karcinómom prsníka by mala genetická analýza obsahovať výstup zo všetkých kódujúcich sekvencií génov *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *PTEN*, *PALB2*, *STK11*, *ATM*, *CHEK2*, *CDH1*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *BRIP1*, *RAD51D*, *RAD51C* (1). Vyšetrenie takzvaných hot-spot najčastejších mutácií vybraných génov, charakteristických pre určité geografické oblasti nie je



Obrázok 1 Klasifikácia sekvenačných variantov

vôbec odporúčaná. Zlatým štandardom korektnej genetickej analýzy je testovanie všetkých kódujúcich exónových oblastí a príslušných intrónov.

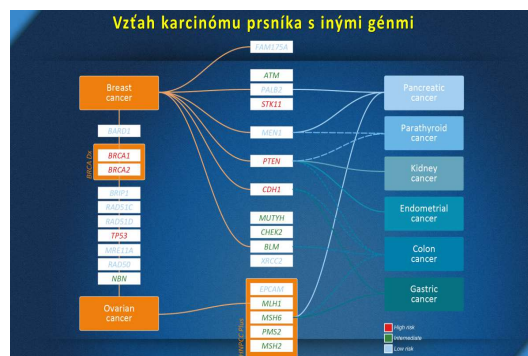
Karcinóm prsníka môže byť súčasťou aj iných syndrémov okrem syndrómu HBOC – Dedičného karcinómu prsníka a vaječníkov. Môže vzniknúť na podklade zárodočnej mutácie v rôznych vysokorizikových génoch, napríklad v géne *CDH1*. Tento gén je kauzálnym génom pri syndróme HDGC - hereditárnej forme difúzneho karcinómu žalúdka [7]. Mutácia v géne *PTEN*, je spojená s Cowdenovým syndrómom a okrem iných fenotypových prejavov tiež s rizikom vývinu karcinómu prsníka (obrázok 2) [8].

Li Fraumeni syndróm podkladom, ktorého je germinatívna mutácia v *TP53* géne, máva v spektre onkologických ochorení výskyt akútnych leukémií, agresívnych typov lymfómov, sarkómov, nádorov mozgu, ale aj karcinóm prsníka [9].

Správny postup pri laboratórnej diagnostike, ktorá využíva metódu sekvenovania druhej generácie NGS je overenie každého nájdeného variantu zo skupiny III., IV., V. formou priameho Sangerovho sekvenovania. Pri pozitívnych nálezoch CNV analýz je za zlatý štandard považovaná mutation-ligand probe amplification – MLPA analýza, pokiaľ je komerčne dostupná. Kombinácia týchto metód zaručuje eradikáciu falošne pozitívnych nálezov, ktoré sa môžu pri NGS a CNV analýze vyskytnúť.

Prognózy nositeliek mutácie v *BRCA1*, *BRCA2* géne a odporúčaný manažment

Prognózy pacientok – nositeliek mutácie v génoch *BRCA1* alebo *BRCA2* sú definované najmä pre celoživotné riziko karcinómu prsníka a vaječníkov. Aj napriek oveľa nižšiemu riziku ovariálneho karcinómu v porovnaní s karcinómom prsníka je v po-



Obrázok 2 Karcinóm prsníka versus vybrané gény

predí potreba preventívnej adnexektómie najneskôr do veku 35-40 rokov. U nositeľiek *BRCA1* mutácie je táto veková hranica odvodená od prudko rastúceho rizika vývinu ovariálneho karcinómu v rozmedzí 35.-40. roku života. Celkové riziko vzniku ovariálneho karcinómu je v prípade *BRCA1* pozitívnosti na úrovni 40-60 %. Nositeľky *BRCA2* mutácie majú celoživotné riziko karcinómu vaječníkov na úrovni 10-30 %, s prudko stúpajúcim trendom vývinu ovariálneho karcinómu približne od 50. roku života [10]. Karcinómy vaječníkov u žien s potvrdenou mutáciou majú agresívnejší priebeh spojený s rýchlym rastom a častokrát s normálnym klinickým nálezom [11].

Štandardné *dispenzarizačné gynekologické schémy* zahŕňajúce polročný odber onkomarkera CA125 nie sú postačujúce. Tento interval sledovania CA125 nestačí pri záchyťe ovariálneho karcinómu. Pri intervaloch odberu CA125 v rozmedzí 4 mesiacov bola zaznamenaná vyššia senzitivita záchyťu karcinómu vaječníkov [12, 13]. V kombinácii so sledovaním pomocou expertného onkogynekologického ultrazvuku – high-end ultrazvok s multifrekvenčnými sondami – vaginálnou transabdominálnou a lineárnou skúseným sonografistom je možné dosiahnuť, čo najpresnejší záchyť gynekologických tumorov [14].

Časové intervaly sledovania po profylaktickej adnexektómii sú voľnejšie. Odporúčané je absolvovať ročné gynekologické vyšetrenie, ročný expertný onkogynekologický ultrazvuk, štandardný skrining cervikálneho karcinómu (v prípade zachovania maternice). Pred operáciou a rok po operácii je pacientkám indikované denzitometrické vyšetrenie s nastavením ďalšieho sledovania podľa kostného nálezu a odporúčania osteológa. Nositeľky *BRCA2* mutácie, u ktorých bola realizovaná profylaktická bilaterálna mastektómia môžu podstúpiť bilaterálnu adnexektómiu o čosi neskôr ako nositeľky mutácie *BRCA1* génu a to vo veku 45-50 rokov [15].

U žien s potvrdenou mutáciou v *BRCA1* a *BRCA2* géne a karcinómom prsníka je stále častejšie diskutovaná aj otázka benefitov profylaktickej hysterektómie. Profylaktická hysterektómia môže byť zvažovaná aj v dôsledku vyššieho rizika vývinu endometriálneho karcinómu u nositeľiek mutácie a zároveň ako prevencia nežiadúcich účinkov liečby tamoxifenu [16]. Na opačnom protipóle prečo hysterektómiu nerealizovať môže byť nižšia kvalita života po operácii vyplývajúca z možnej inkontinencie a ovplyvnenia sexuálnych funkcií.

Trojicu profylaktických chirurgických zákrokov uzatvára profylaktická mastektómia. V prípade tohto chirurgického zákroku panuje všeobecná zhoda za radikálnu výkonu a to nielen v prípade ak je žena nositeľkou mutácie v *BRCA1* a *BRCA2* géne [17]. U žien s novodiagnostikovaným karcinómom prsníka, ktoré boli dodatočne indikované na genetickú analýzu a výsledok potvrdil prítomnosť mutácie je profylaktická kontralaterálna mastektómia jednoznačne indikovaným výkonom. Riziko vzniku kontralaterálneho karcinómu prsníka u *BRCA1* a *BRCA2* nositeľiek, stúpa v horizonte najbližších 20 rokov od stanovenia diagnózy karcinómu približne o 40 % [18].

Dispenzarizačné schéma prsníkov pre nositeľky mutácie BRCA1/BRCA2:

- samovyšetrenie prsníkov od 18 roku života,
- klinické vyšetrenie prsníkov v odbornej ambulancii polročne,
- od 25 roku života MRI a USG prsníkov polročne (v prípade výskytu skorého Ca prsníka, sledovanie začať o 10 rokov skôr ako bol diagnostikovaný karcinóm u najmladšej príbuznej),
- od 30 roku – do 65 roku života MRI a MG, strieďať každých 6 mesiacov (MG ročne od 30 roku života – určuje rádiodiagnostik podľa typu prsnej žľazy),
- od veku 65 rokov: MG a USG každých 6 mesiacov.

Vo veku 25 a 30 rokov je odporúčaná vstupná mamografia s cieľom posúdenia prípadne potvrdenia mikrokalcifikátov (jedna šikmá MLO projekcia na každý prsník). MRI realizovať medzi 7. a 17. dňom menštruačného cyklu.

Pre nositeľky mutácie *BRCA1/2*, u ktorých bol diagnostikovaný karcinóm prsníka a ukončili liečbu je dispenzarizačné schéma identická ako pre zdravé nositeľky mutácie [19].

Indikačné kritériá platné pre Slovenskú republiku

Aktualizovaná verzia odborného usmernenia Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky o štandardizácii genetickej diagnostiky syndrómu hereditárneho karcinómu prsníka a ovárií je k dispozícii na stránke Slovenskej spoločnosti lekárskej genetiky SSLG v sekcii Dokumenty.

V odbornom usmernení sú definované 3 skupiny pacientov s nárokom na genetickú analýzu génov *BRCA1*, *BRCA2*:

1. *skupina*: jedinec s verifikovaným karcinómom prsníka a/alebo ovárií, ak pochádza z rodiny, kde sa vyskytujú:

- 3 a viac príbuzných s karcinómom prsníka a /alebo ovária v jednej príbuzenskej línii (bilaterálny karcinóm je považovaný za dva prípady),
- 2 príbuzní prvého alebo druhého stupňa s karcinómom prsníka ak aspoň u jedného bol diagnostikovaný do dovŕšenia 50. roku veku, alebo prsníka a ovária bez ohľadu na vek,
- 1 príbuzný s karcinómom prsníka do dovŕšenia 50. roku života alebo karcinómu ovária bez ohľadu na vek a ďalší príbuzný s HBOC asociovaným tumorom (karcinóm hrubého čreva a konečníka, pankreasu, prostaty, maternice, malígný melanóm),
- pacient s karcinómom prostaty s vysokým Gleason skóre (nad 7) a jeden príbuzný s karcinómom ovária alebo karcinómom prsníka do dovŕšenia 50 rokov veku alebo s viacerými príbuznými s karcinómom prsníka, prostaty a pankreasu bez ohľadu na vek,

2. *skupina* pacientov s verifikovaným karcinómom prsníka, ovárií alebo prostaty bez rodinnej anamnézy, ak spĺňa aspoň jedno z uvedených kritérií a bol u nich zistený:

- karcinóm prsníka do dovŕšenia 45. roku veku,
- obojstranný karcinóm prsníka, prvé ochorenie do dovŕšenia 50. roku veku,
- invazívny serózný karcinóm ovária / tuby / primárny peritoneálny karcinóm,
- medulárny a atypický medulárny karcinóm prsníka do dovŕšenia 60. roku veku,
- karcinóm prsníka s triple negativitou (negativita receptorov ER, PR a HER2) do 60. roku veku,
- duplicitný výskyt karcinómu prsníka a ovária,
- duplicitný výskyt karcinómu prsníka a pankreasu,
- karcinóm prsníka u muža.

3. *skupina*: asymptomatickí jedinci, ak pochádzajú z rodiny:

- s viacnásobným výskytom karcinómu prsníka (Clausove riziko nad 25 %),
- s I. stupňovou príbuznou s duplexným výskytom karcinómu prsníka a ovária,

- s dvomi príbuznými I. stupňa (v paternálnej línii aj druhého stupňa) s karcinómom ovária,
- otec alebo brat s karcinómom prsníka a ďalší príbuzný I. či II. stupňa má karcinóm prsníka.

Indikačné kritériá pre testovanie *BRCA1,2* génov prešli svojím vývinom od jednej veľkej zmiešanej skupiny kritérií k trom skupinám zahŕňajúcim jedincov vo vysokom riziku. Aktuálne platná verzia z decembra 2017 rozšírila možnosť testovania o sporadické typy karcinómov prsníka bez pozitívnej rodinnej anamnézy až do veku 60 rokov [20].

ZÁVER

Nárast potreby genetických vyšetrení spolu so zvyšovaním celkového počtu jedincov spadajúcich do platných indikačných kritérií pre genetickú analýzu so sebou priniesol tlak na zlepšovanie diagnostiky a skracovanie samotného času genetického vyšetrenia. Pozitívne nálezy majú konkrétny dopad na schémy celoživotných sledovaní. V prípade už potvrdených karcinómov vplýva pozitívny výsledok aj na celkový rozsah a radikalitu chirurgických operácií. Práve preto potrebujú pacientky s novodiagnostikovanými karcinómami ženských orgánov ú informáciu o výsledku testovania v čo najkratšom čase 3-4 týždňov. Je preto dôležitá spolupráca s genetickými pracoviskami, ktoré sú kapacitne a odborné schopné diagnostiku v krátkom časovom intervale realizovať. Tieto genetické pracoviská musia mať personálne zabezpečenie s minimálne 5-ročnou praxou svojich expertov na diagnostiku, skúsenosťami v oblasti humánnej onkogenetiky a tiež disponovať adekvátnym prístrojovým vybavením.

ZOZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH ODKAZOV

- [1] SINGER, C.F., et al. Genetic counselling and testing of susceptibility genes for therapeutic decision-making in breast cancer – an European consensus statement and expert recommendations. *European Journal of Cancer*. 2019; 106: 54-60.
- [2] CORTESI, L., COSTA A., et al. A rapid genetic counselling and testing in newly diagnosed breast cancer is associated with high rate of risk reducing mastectomy in *BRCA1/2* – positive Italian women. *Ann Oncol*. 2014; 25 (1): 57-63.
- [3] *Koncepcia zdravotnej starostlivosti Ministerstvo zdravotníctva SR č: S01260-OZS-2014 z 31.01.2014 v odbore lekárska genetika*. [online]. [cit. 2018-12-14]. <<http://www.sslg.sk/index>>

- php/dokumenty/metodicke-pokyny/53-koncepcia-zdravotnej-starostlivosti-v-odbore-lekarskagenetika>
- [4] RICHARDS, S., AZIZ, N., BALE, S., et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in medicine*. 2015; 17 (5): 405-424.
- [5] CALÒ, V., BRUNO, L., LA PAGLIA, L., et al. The Clinical Significance of Unknown Sequence Variants in BRCA Genes. *Cancers (Basel)*. 2010; 2 (3): 1644-1660.
- [6] MORRIS, G.J., et al. *Assessing Genetic Variants of Uncertain Significance: The Example of Breast Cancer*. DOI: 10.1002/9780470015902.a0025220
- [7] HANSFORD, S., KAURAH, P., et al. Hereditary Diffuse Gastric Cancer Syndrome: CDH1 mutations and beyond. *Jama Oncol*. 2015; 1 (1): 23-32.
- [8] NQEOW, J., SESOCK, K., ENG, C. Breast cancer risk and clinical implications for germline PTEN mutation carriers. *Breast Cancer res treat*. 2017; 165 (1): 1-8.
- [9] MAI, P.L., BEST, A.F., et al. Risks of first and subsequent cancers among TP53 mutation carriers in the National Cancer Institute Li Fraumeni Syndrome cohort. *Cancer*. 2016; 122 (23): 3673-3681.
- [10] KING, M.C., MARKS, J.H., et al. Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science*. 2003; 302 (5645): 643-646.
- [11] ZIKAN, M. *Hereditárni syndromy*. In: Cibula, D., Petruželka, L. (eds). *Onkogynekologie*. Praha: Grada, 2009: 614.
- [12] MENON, U., GRIFFIN, M., et al. Ovarian cancer screening-current status, future directions. *Gynecol Oncol*. 2014; 132 (2): 490-495.
- [13] SKATES, S.J., MAI, P., et al. Large prospective study of ovarian cancer screening in high-risk women: CA125 cut-point defined by menopausal status. *Cancer Prev Res*. 2011; 4 (9): 1401-1408.
- [14] VALENTIN, L., JURKOVIČ, D., et al. Adding a single CA 125 measurement to ultrasound imaging performed by an experienced examiner does not improve preoperative discrimination between benign and malignant adnexal masses. *Ultrasound Obstet Genecol*. 2009; 34 (3): 345-354.
- [15] ZIKAN, M. Gynekologická prevence a gynekologické aspekty péče u nosiček mutací genu BRCA1 a BRCA2. *Klin Onkol*. 2016; 29 (Suppl 1): S22-S30.
- [16] BEINER, M.E., ROSEN, B., et al. The risk of endometrial cancer in women with BRCA1 and BRCA2 mutations a prospective study. *Gynecol Oncol*. 2007; 104 (1): 7-10.
- [17] BURKE, E.E., PORTSCHY, P.R., TUTTLE, T.M. Prophylactic mastectomy: who needs it, when and why. *J Surg Oncol*. 2015; 111 (1): 91-95.
- [18] KUCHENBAECKER, K.B., HOPPER, J.L., et al. Risks of breast, ovarian and contralateral breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J Am Med Assoc*. 2017; 317 (23): 2402-2416.
- [19] PETRÁKOVÁ, K., PALÁCOVÁ, M., et al. Syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií. *Klin Onkol*. 2016; 29 (SUPPL 1): S14- S21.
- [20] *Odborné usmernenie Ministerstva zdravotníctva SR č: S10506-OZS-2014 z 8.12.2017 o štandardizácii genetickej diagnostiky syndrómu hereditárneho karcinómu prsníka a ovarií*. [online]. [cit. 2018-12-14]. URL: <http://www.sslg.sk/images/Dokumenty/OdborneUSM/OU_MZ_HBOC_updated_2017.pdf>.

MONITOROVANIE ÚROVNE HYGIENY RÚK VO FN TRNAVA MONITORING OF HAND HYGIENE IN FN TRNAVA

MÍŠECHOVÁ Katarína¹, PRNOVÁ Janka^{2,4,5}, BRŇOVÁ Jaroslava^{3,4,5}

¹ Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Trenčíne, Trenčín

² Katedra verejného zdravotníctva, Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnavská univerzita v Trnave, Trnava

³ Katedra laboratórných vyšetrovacích metód v zdravotníctve, Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnavská univerzita v Trnave, Trnava

⁴ Oddelenie nemocničnej hygieny a epidemiológie, Fakultná nemocnica Trnava

⁵ Centrum mikrobiológie a prevencie infekcií, Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnavská univerzita v Trnave, Trnava

ABSTRAKT

Východiská: Infekcie asociované so zdravotnou starostlivosťou predstavujú v súčasnosti závažný verejno-zdravotnícky problém, ktorý ohrozuje zdravie a bezpečnosť pacientov po celom svete. Najefektívnejšou a najlacnejšou prevenciou proti HCAI je hygiena rúk.

Ciele práce: Hlavným cieľom našej práce bolo vyhodnotenie spotreby alkoholovej dezinfekcie za celú FN Trnava, za jednotlivé lôžkové pracoviská za roky 2013-2017. Taktiež porovnanie spotreby alkoholovej dezinfekcie pred a po zavedení vyhlášky MZ SR 192/2015 Z. z. a vyhodnotenie pilotného testovania compliance k hygiene rúk u zdravotníckych pracovníkov.

Metodika práce: Dizajn práce bol rozdelený na 2 časti. Dizajn 1. časti má charakter deskriptívnej štúdie. V tejto časti sme spracovávali a vyhodnocovali údaje o spotrebe alkoholovej dezinfekcie vo FN Trnava za roky 2013-2017. Ďalšia časť práce bola vykonaná formou observačnej štúdie, kde sme sledovali dodržiavanie hygieny rúk u zdravotníckych pracovníkov pri výkone práce.

Výsledky: Spotreba alkoholovej dezinfekcie za celú FN Trnava má za roky 2013-2017 narastajúci trend. Pri porovnaní roku 2013 s rokom 2017 vzrástla z 15,7 l na 19,4 l / 1000 pacientských dní. Zaznamenali sme významný rozdiel ($p < 0,05$) v spotrebe dezinfekcie pred a po zavedení vyššie uvedenej vyhlášky. Úroveň compliance za sledované pracoviská predstavovala 31 %.

Záver: Naše výsledky poukazujú na čiastočné zlepšenie v tejto oblasti, najmä v súvislosti s prijatím novej vyhlášky. Úroveň povedomia je však stále na nízkej úrovni, či už v spotrebe alkoholovej dezinfekcie, v dodržiavaní hygieny rúk zdravotníckymi pracovníkmi alebo v samotnom povedomí o celej tejto problematike.

Kľúčové slová: Hygiena rúk. Spotreba alkoholovej dezinfekcie. Infekcie asociované so zdravotnou starostlivosťou

ABSTRACT

Background: Healthcare associated infections represent a serious public health problem, which threatens health and safety of patients all around the world. The most effective and cheapest prevention against HCAI is hand hygiene.

Objectives: Main objective in our study was evaluation of alcohol handrub consumption of wards and the whole Trnava teaching hospital in years 2013-2017. Our objective was also to

compare the alcohol handrub consumption before and after establishment of regulation 192/2015 of health ministry and evaluation of pilot testing of hand hygiene compliance among healthcare staff.

Methods: The first part of our study had character of descriptive study. In this part we processed and evaluated data of alcohol handrub consumption in Trnava teaching hospital in years 2013-2017. Next part of our study had a character of observational study, in which we observed hand hygiene compliance.

Results: Alcohol handrub consumption in Trnava teaching hospital in years 2013-2017 had a rising trend. Alcohol handrub consumption rose from 15,7 l to 19,4 l / 1000 patient days between years 2013 - 2017. We noticed a significant difference ($p < 0,05$) in handrub consumption before and after establishment of mentioned regulation. Compliance rate for observed wards was 31 %.

Conclusion: Our results point to a partial improvement in this area, especially after establishment of regulation. However, alcohol handrub consumption and hand hygiene compliance among healthcare staff or the awareness of the whole issue are still low.

Key words: Hand hygiene. Alcohol handrub consumption. Healthcare associated infections

ÚVOD

Infekcie asociované so zdravotnou starostlivosťou (HCAI) predstavujú v súčasnosti závažný verejno-zdravotnícky problém, ktorý ohrozuje zdravie a bezpečnosť pacientov po celom svete.

Ruky zdravotníckych pracovníkov sú neustále kontaminované rôznymi nemocničnými patogénmi a taktiež ich pokladáme za najrizikovejší spôsob prenosu nozokomiálnych nákaz. Je dokázané, že viac ako 60 % nozokomiálnych nákaz je spôsobených prenesením rukami zdravotníckych pracovníkov kontaminovaných nemocničnou mikroflórou. Mikroorganizmy nemocničnej mikroflóry majú odlišné vlastnosti ako mikroorganizmy, ktoré sa nachádzajú bežne, v populácií. Táto skutočnosť je zapríčinená dlhodobou kolonizáciou a cirkuláciou

kmeňov v nemocničnom zariadení. Takýmto spôsobom mikroorganizmy získavajú vlastnosti ako rezistencia alebo dokonca až multirezistencia na používané antibiotiká, chemoterapeutiká a taktiež aj na používané dezinfekčné prostriedky [1].

Je dostupné nespočetné množstvo vedeckých dôkazov o tom, že dodržiavanie postupov pre hygienu rúk znižujú HCAI a taktiež znižujú prenos mikroorganizmov od pacienta k pacientovi. Okrem toho, mnoho štúdií už poukázalo aj na skutočnosť, že programy na podporu hygieny rúk sú nákladovo efektívne. Dôkazy aj naďalej potvrdzujú, že hygiena rúk je najjednoduchším a najefektívnejším spôsobom prevencie v šírení infekcií spojených so zdravotnou starostlivosťou [2]. Napriek všeobecne známemu významu hygieny rúk v zabránení prenosu patogénov spojených s nozokomiálnymi nákazami a skutočnosť, že hygiena rúk je jednoduchý úkon, úroveň dodržiavania (compliance) hygieny rúk je celosvetovo v mnohých zdravotníckych zariadeniach nízka – v priemere menej ako 40 % [3].

Alkoholová dezinfekcia odstraňuje organizmy najúčinnšie a je referenčným štandardom pre efektívnu hygienu rúk. Z toho dôvodu je sledovanie spotreby alkoholovej dezinfekcie jedným z dôležitých parametrov pre hodnotenie hygieny rúk a je taktiež odporúčaná stratégiou WHO [4].

Indikácie pre hygienu rúk:

- ruky sa umývajú tekutým mydlom keď sú viditeľne znečistené, keď sú znečistené krvou alebo inými telesnými tekutinami alebo po použití toalety,
- ak je dokázaná potenciálna expozícia patogénom tvoriacim spóry, vrátane *Clostridium difficile*, tak sa vykoná kombinované ošetrovanie rúk – dezinfekcia a následne umytie rúk tekutým mydlom (zaručí sa tak mechanické zmytie spór, ktoré by alkoholovej dezinfekcií mohli odolať), mydlo a alkoholová dezinfekcia rúk by sa inak nemali používať súbežne,
- alkoholová dezinfekcia rúk by sa mala preferovať vo všetkých ostatných prípadoch rutinej hygieny rúk,
- pred manipuláciou s medikamentmi, alebo pred prípravou potravín je potrebné vykonať dezinfekciu rúk, buď pomocou alkoholovej dezinfekcie alebo umytím rúk antiseptickým mydlom,
- mydlo a alkoholová dezinfekcia rúk by sa nemali používať súbežne [5].

Hygiena rúk v správnom čase

Ochrana pacientov pred HCAI sa dá dosiahnuť dodržiavaním hygieny rúk v piatich kľúčových momentoch, najlepšie používaním alkoholovej dezinfekcie, alebo umývaním rukou mydlom a vodou, ak sú ruky viditeľne znečistené.

„*Päť momentov*“ pre hygienu rúk obsahuje:

- pred kontaktom pacienta,
- pred aseptickým výkonom,
- po expozícii telesnými tekutinami,
- po kontakte s pacientom,
- po kontakte s prostredím pacienta [6].

CIELE

Hlavným cieľom našej práce bolo vyhodnotenie celkovej spotreby alkoholovej dezinfekcie vo FN Trnava za roky 2013-2017 a porovnanie spotreby alkoholovej dezinfekcie pred a po zavedení vyhlášky MZ SR 192/2015 Z. z.. Následne sme zhodnotili pilotné testovanie compliance k hygiene rúk u zdravotníckych pracovníkov.

METODIKA

Dizajn práce

Dizajn práce je zložený z dvoch rôznych prístupov z hľadiska získavania a spracovania potrebných dát. Dizajn 1.časti má charakter deskriptívnej štúdie. V tejto časti sme spracovávali a vyhodnocovali údaje o spotrebe alkoholovej dezinfekcie vo FN Trnava za roky 2013-2017. Ďalšia časť práce bola vykonaná formou observačnej štúdie, kde sme sledovali dodržiavanie hygieny rúk u zdravotníckych pracovníkov pri výkone práce.

Miesto výskumu

Výskum prebiehal vo FN Trnava. Nemocnica poskytuje ústavnú zdravotnú starostlivosť na 638 lôžkach, pričom ročne je tu hospitalizovaných približne 25 000 pacientov a vykonaných približne 8000 operačných výkonov.

Metodika spracovania údajov

V rámci deskriptívneho spracovania spotreby dezinfekcie sme sa zamerali výlučne na lôžkové oddelenia nemocnice, ostatné pracoviská boli z výskumu vyradené. Observačná štúdia bola vykonávaná na zistenie a zhodnotenie úrovne compliance k hygiene rúk u zdravotníckych pracovníkov na štyroch vybraných pracoviskách nemocnice. Aby sa výsledky compliance medzi jednotlivými pracoviskami mohli porovnávať, bolo zozbieraných 200

údajov pre každé pracovisko. Údaje o compliance hygieny rúk boli zozbierané využitím aplikácie digitálneho monitorovacieho nástroja (Observe, Hartmann-rico s.r.o.), ktorý vychádza z odporúčaní WHO o hygieny rúk z roku 2009.

Etické aspekty práce

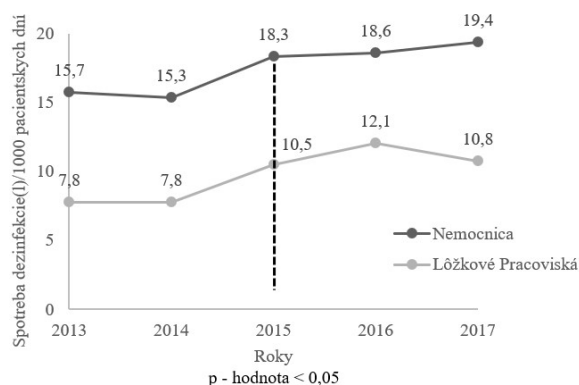
Údaje o spotrebe alkoholovej dezinfekcie boli spracované na Oddelení nemocničnej hygieny a epidemiológie. Na vykonávanú prácu a výskum sa nevzťahovala požiadavka na udelenie informovaného súhlasu, pretože sa nejedná o biomedicínsky výskum. V rámci pozorovaní na určených pracoviskách sme nezasahovali do terapeutických alebo diagnostických postupov a rovnako aj všetky údaje boli zozbierané anonymne.

Štatistická forma spracovania

Dáta o spotrebe alkoholovej dezinfekcie na lôžkových pracoviskách sme vyhodnocovali v litroch na 1000 patientskych dní. Ďalšia metóda štatistickej analýzy bola vykonaná prostredníctvom programu R. Za štatisticky významné sme si určili výsledky, kde p -hodnota $< 0,05$. Pomocou programu R sme zisťovali, či bol štatisticky významný rozdiel medzi spotrebou dezinfekcie pred a po zavedení vyhlášky 192/2015 Z. z. v rámci celej nemocnice a v porovnaní jednotlivých pracovísk. Na zistenie signifikantného rozdielu medzi takýmito 2 kontinuálnymi premennými sme použili párový t -test.

VÝSLEDKY

V grafe č. 1 je znázornené porovnanie spotreby dezinfekcie pred a po zavedení spomínanej vyhlášky za sledované roky. V grafe je ďalej znázornená spotreba alkoholovej dezinfekcie celej FN, ale

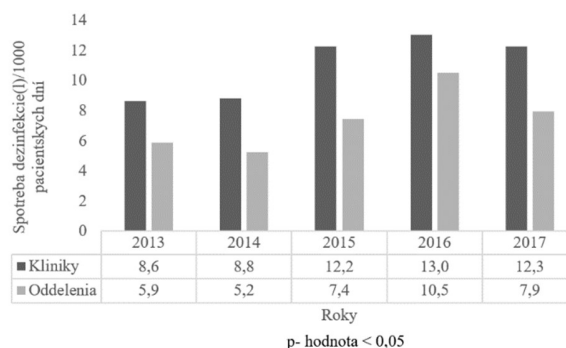


Graf 1 Porovnanie celkovej spotreby alkoholovej dezinfekcie FN Trnava s lôžkovými pracoviskami pred a po zavedení vyhlášky MZ SR 192/2015 Z. z.

aj spotreba sledovaných lôžkových pracovísk za roky 2013 - 2017. Zistili sme, že spotreba alkoholovej dezinfekcie celej nemocnice aj sledovaných lôžkových pracovísk má za obdobie rokov 2013-2017 narastajúci trend. Signifikantný rozdiel ($p < 0,05$) sme zaznamenali pri porovnaní spotreby pred a po zavedení vyhlášky MZ SR 192/2015 Z. z. Tento rozdiel nám dokazuje, že zavedenie vyhlášky s následnými školeniami zamestnancov a importovaním aktualizovaných postupov hygieny rúk do prevádzkových poriadkov, prispelo k lepšiemu dodržiavaniu hygieny rúk a častejším používaním alkoholovej dezinfekcie zdravotníkmi pracovníkmi. Pri porovnaní spotreby celej nemocnice so spotrebou za všetky lôžkové pracoviská sme taktiež zaznamenali signifikantný rozdiel. Tento rozdiel je spôsobený prevažne v spotrebe dezinfekcie na nelôžkových pracoviskách ako napr. centrálna sterilizácia, rádiológia, komplex operačných sál a iné, ktoré sme z nášho výskumu vylúčili.

V grafe č. 2 je znázornenie porovnanie spotreby alkoholovej dezinfekcie medzi klinikami a oddeleniami, kde sme tiež zistili signifikantný rozdiel. Kliniky spotrebovali za roky 2013-2017 výrazne viac alkoholovej dezinfekcie ako oddelenia.

Tabuľka č. 1 znázorňuje úroveň compliance hygieny rúk na pozorovaných pracoviskách FN Trnava. Z pozorovaných 800 indikácií je v tabuľke uvedená compliance jednotlivito pre 5 momentov hygieny rúk. Najvyššia compliance bola zaznamenaná v momentoch po kontakte s biologickým materiálom, konkrétne 45 %. Druhá najvyššia compliance (40 %) bola zaznamenaná v momentoch po kontakte s pacientom. Najnižšia úroveň compliance bola evidovaná pred aseptickými výkonmi.

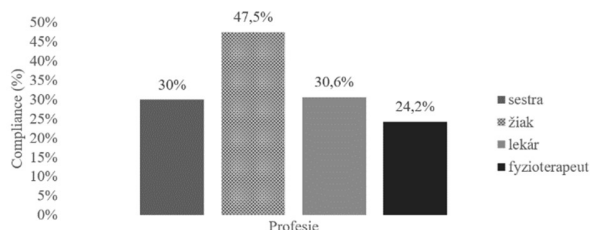


Graf 2 Porovnanie spotreby dezinfekcie na klinikách so spotrebou na oddeleniach FN Trnava za roky 2013-2017

Tabuľka 1 Vyhodnotenie compliance hygieny rúk na sledovaných pracoviskách FN Trnava

	Počet indikácií	Počet vykonaných akcií HR	Počet nevykonaných akcií HR	Compliance
Pred kontaktom s pacientom	261	66	195	25 %
Pred aseptickým výkonom	112	23	89	21 %
Po riziku kontaktu s biologickým materiálom	77	35	42	45 %
Po kontakte s pacientom	226	77	149	34 %
Po kontakte s okolím pacienta	124	50	74	40 %
Celkom	800	251	549	31 %

V grafe č. 3 je zobrazená úroveň compliance sledovaných pracovísk podľa pracovného zaradenia. Najlepšiu compliance mali študenti ošetrovateľstva, ktorí dosiahli úrovne 47 %. Druhú najvyššiu compliance mali lekári (30,6 %), tretiu sestry (30 %). Najnižšia úroveň compliance bola evidovaná u fyzioterapeutov, konkrétne 24,2 %.

**Graf 3** Úroveň compliance podľa pracovného zaradenia na sledovaných pracoviskách FN Trnava

DISKUSIA

V našej štúdií sme vyhodnotili spotrebu alkoholovej dezinfekcie vo FN Trnava v rámci jej jednotlivých pracovísk, ktorá má dlhodobu stúpajúcu trend. Môžeme potvrdiť, že vyhláška MZ SR 192/2015 Z. z. mala efektívny dopad a v našich výsledkoch sme zaznamenali signifikantné rozdiely pred a po jej zavedení. Európsky medián v spotrebe alkoholovej dezinfekcie predstavuje 18,7 l / 1000 patientských dní, no je treba podotknúť, že takúto spotrebu dezinfekcie nedosahujú všetky lôžkové pracoviská FN Trnava. Taktiež sme zaznamenali aj také pracoviská, kde je spotreba nižšia ako 10 l / 1000 patientských dní. Úroveň compliance k hygieny rúk za 4 sledované pracoviská dosiahla iba 31 %.

Intervenčná štúdia z Číny sa rovnako zaoberala hodnotením compliance u zdravotníckych pracovníkov. Z celkového počtu 27 852 pozorovaní v 17-mesačnom období sa miera compliance zlepšila z hodnoty 37,78 % na 75,90 % po vykonaní intervencie. Signifikantné zlepšenie compliance, ale aj

zvýšenie spotreby alkoholovej dezinfekcie bolo pozorované taktiež po intervencii. Konkrétne priemerná spotreba dezinfekcie vzrástla z 7,40 ml na patientsky deň na 12,15 ml na patientsky deň [7].

Štúdia zo Španielska vyhodnocovala vplyv multimodálnej vzdelávacej kampane WHO na dodržiavanie hygieny rúk. Vyhodnocovali a porovnávali compliance hygieny rúk, spotrebu alkoholovej dezinfekcie, výskyt nozokomiálnych nákaz a MRSA pred intervenciou, po intervencii a po roku sledovania. Úroveň compliance sa zvýšila z 54,3 % na 75,8 % ($p < 0,05$) a pri sledovaní o rok sa udržala na 75,8 %. Spotreba alkoholovej dezinfekcie sa zvýšila z 10,5 na 27,2 l / 1000 patientských dní a po roku sa zvýšila až na 31,5 l / 1000 patientských dní. Po zvýšení spotreby dezinfekcie a zlepšení compliance sa zaznamenal aj klesajúci trend incidencie infekcií MRSA [8].

Profesor Pittet a kolektív v štúdií z roku 2000 uviedli, že compliance k hygieny rúk sa postupne zlepšila z 48 % (r. 1994) na 66 % (r. 1997). Počas rovnakého obdobia klesla celková miera nozokomiálnych infekcií z 16,9 % (r. 1994) na 9,9 % (r. 1998). Počas štúdií sa zistilo, že miera prenosu MRSA sa znížila a celková spotreba alkoholovej dezinfekcie v nemocnici sa zvýšila z 3,5 na 15,4 l / 1000 patientských dní [9].

V rámci vykonávania nášho výskumu, sme si okrem dodržiavania hygieny rúk u zdravotníckych pracovníkov všimli aj rôzne nedostatky s tým súvisiace. Za najväčšie nedostatky pracovníkov považujeme hlavne nerešpektovanie platnej legislatívy SR, kde je jasne stanovené, že pri ošetrovaní pacientov zdravotníci nesmú mať ani dlhé, ani umelé nechty a rovnako nesmú mať na rukách žiadne šperky (vyhláška MZ SR č. 553/2007 Z. z.).

ZÁVER

Našou prácou sme chceli poukázať na dôležitosť a potrebu zvýšenej pozornosti v oblasti monitorovania úrovne hygieny rúk. Naše výsledky poukazujú

na fakt, že u zdravotníckych pracovníkov je stále nízka úroveň, či už v spotrebe alkoholovej dezinfekcie, v dodržiavaní hygieny rúk zdravotníckymi pracovníkmi, alebo v samotnom povedomí o celej tejto problematike. Do budúca je potrebná zásadná zmena v systéme, čo sa týka tejto oblasti, a rovnako aj zvýšená edukácia zdravotníckych pracovníkov.

ZOZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH ODKAZOV

- [1] MAĎAR, R., PODSTATOVÁ, R., ŘEHOŘOVÁ, J. *Prevenca nozokomiálnych nákaz v klinickej praxi*. Praha: Grada Publishing, 2006. 177s. ISBN 80-247-1673-9.
- [2] MONNET, D.L., SPRENGER, M. Hand hygiene practices in healthcare: measure and improve. [online] In *Eurosurveillance*. 2012, vol. 17, no. 18 [cit. 2018.12.12] Dostupné na: <http://www.eurosurveillance.org/cont/10.2807/ese.17.18.20166-en>
- [3] GODIN, G., BELANGER-GRAVEL, A., ECCLES, M., et al. Healthcare professionals' intentions and behaviours: a systematic review of studies based on social cognitive theories. *Implementation Sci.* 2008; 3: 36.
- [4] ECKMANN, T., SCHWAB, F., BESSERT, J., et al. Handrub consumption and hand hygiene compliance are not indicators of pathogen transmission in intensive care units. [online] In *Journal of Hospital Infection*. 2006, 63 (4): 406-411.
- [5] Vyhláška č. 192/2015 Z. z., Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky z 28. júla 2015, ktorou sa mení a dopĺňa vyhláška Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky č. 553/2007 Z. z., ktorou sa ustanovujú podrobnosti o požiadavkách na prevádzku zdravotníckych zariadení z hľadiska ochrany zdravia.
- [6] WHO Europe. 2017. Hand hygiene a key defence in Europe's fight against antibiotic resistance. [online] Copenhagen: WHO Europe, 2017. [cit. 2018.12.12] Dostupné na: <http://www.euro.who.int/en/healthtopics/Healthsystems/healthworkforce/news/news/2017/05/hand-hygiene-a-key-defence-in-europes-fight-against-antibiotic-resistance>
- [7] MU, X., XU, Y., YANG, T., et al. Improving hand hygiene compliance among healthcare workers: an intervention study in a Hospital in Guizhou Province, China. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2016; 20 (5): 413-418.
- [8] MONISTROL, O., CALBO, E., RIERA, M., et al. Impact of a hand hygiene educational programme on hospital-acquired infections in medical wards. *Clinical microbiology and infection*. 2012; 18 (12): 1212-1218.
- [9] PITTET, D., HUGONNET, S., HARBARTH, S., et al. Effectiveness of a hospital-wide programme to improve compliance with hand hygiene. Infection control programme. *Lancet*. 2000; 356: 1307-1312.

BORDETELLA PERTUSSIS: MOŽNOSTI DIAGNOSTIKY A VÝSKYT BORDETELLA PERTUSSIS: POSSIBILITIES OF DIAGNOSTICS AND OCCURRENCE

HUDECOVÁ Gabriela

Oddelenie klinickej mikrobiológie, Nemocenská BB spol. s r.o., Banská Bystrica

ABSTRAKT

V posledných rokoch sme svedkami stúpajúceho výskytu čierneho kašľa, a to najmä vo vekovej skupine adolescentov, mladých dospelých a detí do 1 roka. Tento nárast sa pripisuje predovšetkým poklesu post-vakcinačnej imunity. Pertussis (divý, dávivý, čierny kašeľ) je vysoko infekčné akútne ochorenie spôsobené malými gram-negatívnymi kokobacilmi *Bordetella pertussis*. Človek je jediným zdrojom infekcie, ktorá sa prenáša kvapôčkovou cestou. Disponuje viacerými faktormi virulencie (adhezíny, toxíny, lipopolysacharid), ktoré sa uplatňujú v patogenéze choroby. Včasná laboratórna diagnostika *Bordetella pertussis* pomocou sérologických vyšetrení a následnej polymerázovej reťazovej reakcie (PCR) má veľký význam pre potvrdenie infekcie, vzhľadom k atypickosti a závažnosti ochorenia u najmladšej vekovej kategórie detí a k subklinickému priebehu u adolescentov a dospelých.

Kľúčové slová: *Bordetella pertussis*. Laboratórna diagnostika. Výskyt

ABSTRACT

Nowadays, occurrence of whooping cough is rising especially in age groups of adolescents, young adults and infants younger than 1 year. Waning of post-vaccination immunity is one of the most important reasons for increasing pertussis occurrence. Pertussis (wild, brithing, black cough) is a highly infectious disease caused by small gram-negative coccobacilli *Bordetella pertussis*. Man is the only source of infection that is transmitted by droplet path. It has several virulence factors (adhesins, toxins, lipopolysaccharide) that are involved in the pathogenesis of the disease. Early laboratory diagnostics of *Bordetella pertussis* by serological examination and subsequent polymerase chain reaction (PCR) is of great importance for confirmation of infection due to the atypicality and severity of the disease in the younger age group of children and to the subclinical course in adolescents and adults.

Key words: *Bordetella pertussis*. Laboratory diagnostics. Occurrence

ÚVOD

Pertussis (divý, dávivý, čierny kašeľ) je vysoko infekčné akútne ochorenie spôsobené malými gram-negatívnymi kokobacilmi *Bordetella pertussis*. Inkubačný čas ochorenia je 9-10 dní, ale môže sa pohybovať v rozsahu 6-20 dní [1]. V klinickom obraze typického dávivého kašľa možno rozlíšiť tri štádiá. Na začiatku ochorenia (katarálne štádium) sú prítomné nešpecifické príznaky poukazujúce na bežnú respiračnú infekciu. V tomto období podanie antibiotík zabráni progresii ochorenia alebo aspoň zníži

závažnosť záchvatov. Suchý dráždivý kašeľ ďalej progreduje a ochorenie prechádza do štádia paroxyzmálneho, keď už podanie antibiotík klinický priebeh ochorenia nezmení. Klinické príznaky paroxyzmálneho štádia sú dôsledkom produkcie pertussického toxínu. Kašeľ je typický záchvatovitý, veľmi vyčerpávajúci, sprevádzaný piskotom a hvízdavým nádychom. Podanie antibiotickej terapie má však v tomto štádiu opodstatnenie z hľadiska epidemiologického, nakoľko znižuje pravdepodobnosť prenosu na iné osoby v okolí. V poslednom štádiu – rekonvalescencii, postupne slabnú záchvaty kašľa, pacient však ostáva slabý. Rekonvalescencia je pomerne dlhá a trvá rádovo týždne. U dospelých a pacientov v adolescencii je priebeh pertussis veľmi často atypický a v klinickom obraze nie je zjavné striedanie vyššie opísaných štádií. Menej závažný kašeľ bez typických záchvatov môže pretrvávajúť aj dlhú dobu, keď je chorý zdrojom infekcie, ktorú nevedomky šíri vo svojom okolí [1-4].

Patogenéza

Baktérie sa viažu prostredníctvom rôznych adhezínov na bunky riasinkovitého epitelu bez toho aby prenikli do epitelu či krvného riečiska. Mimo púzdra chrániaceho patogén pred inaktiváciou komplementom existujú funkčné dve skupiny virulentných faktorov: adhezíny a toxíny. Dva najdôležitejšie faktory adherencie sú filamentózyhemaglutinín (FHA) a pertussický toxín (PT), ktoré môžu fungovať ako exotoxín alebo adhezín. Na rozdiel od *Bordetella pertussis* nevytvára *Bordetella parapertussis* pertussický toxín. *Bordetella pertussis* a *Bordetella parapertussis* sú na vonkajšej membráne vybavené membránovým toxínom pertaktinomom, ktorý hrá úlohu pri uchytení sa na hostiteľskú bunku. Ďalšími virulentnými faktormi sú toxín adenylátcykláza, ktorý postihuje imunitnú odozvu hostiteľa a tracheálny cytotoxín vytvorený peptidoglykanom bunkovej steny, ktorý spôsobuje fázu pohybu rias [5-8].

Epidemiológia

V aktuálnej správe Európskeho centra pre prevenciu a kontrolu chorôb (ECDC) sa uvádza 40 727

prípadoch pertussis za rok 2014 v 29 štátoch EÚ / EHP, z toho v SR bolo hlásených 20,7 prípadov na 100 000 obyvateľov. Špecifické údaje o veku boli najvyššie u pacientov vo veku < 1 roka (51,6 prípadov na 100 000 obyvateľov), po nich nasledovali 10-14 ročný (24,4 na 100 000 obyvateľov) a 15-19 ročný (19,7 na 100 000 obyvateľov). Väčšina členských štátov uviedla údaje z komplexných, pasívnych systémov dohľadu s celoštátnym pokrytím [9].

LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA

Za štandard diagnostiky bola považovaná kultivácia. Je špecifická, avšak málo citlivá, najmä u starších detí, mladistvých a dospelých, ktorí sú liečení antibiotikami alebo u ktorých kašeľ trvá tri a viac týždňov. Citlivosť priamej diagnostiky výrazne zvýšila metóda polymerázovej reťazovej reakcie (PCR). Sérologické vyšetrenie pomocou ELISA metód je vhodné k potvrdeniu diagnózy najmä u pacientov v neskoršej fáze ochorenia [10].

Kultivácia

Kultivačný dôkaz *Bordetella pertussis* je štandardným testom pre diagnózu pertussis. Je však výrazne menej citlivý ako PCR, a časovo náročnejší. Senzitivita kultivácie je 20-40 %. Odber sa robí pred začatím antibiotickej terapie, nalačno. Na výter sa používa špeciálny dakrónový tampón (bavlnený tampón je toxický pre bordetely). Výter je nutné urobiť zo zadnej steny nosohltanu ideálne cez nosové priechody, prípadne cez ústnu dutinu ohnutým tampónom. Materiál je transportovaný do laboratória v transportnom médiu. Doba transportu by nemala byť dlhšia ako 24 hodín. Kultivácia sa vykonáva na špeciálnych kultivačných pôdach Bordet-Gengou agar prípadne Charcoal agar. Platne sa kultivujú pri teplote 35-37 °C po dobu 7 dní a denne sa hodnotia. Po izolácii čistej kultúry je vhodné kolónie overiť sklíčkovou aglutináciou s príslušnými antiserami, prípadne PCR metódou. Izolované kmene sa zasielajú do NRC pre pertussis a parapertussis za účelom typizácie pomocou pulznej elektroforézy (PFGE) [11].

Polymerázová reťazová reakcia (PCR)

Na priamu diagnostiku *Bordetella pertussis* sa v súčasnosti začala používať metóda PCR. Real-time PCR je jednou z najčastejšie využívaných typov PCR, nakoľko pomocou fluorescenčne značených sond umožňuje nielen sledovať priebeh reakcie v reálnom čase, ale aj detekciu a rozlíšenie *Bordetella pertussis* a *Bordetella parapertussis* tej istej

vzorke. Najčastejšie PCR metódy ako cieľovú sekvenciu využívajú inzerčnú sekvenciu *IS 481* promotorovú oblasť génu kódujúceho S1 podjednotkupertussis toxínu (*ptxS1*), génovú oblasť kódujúcu adenylátcyklázu (*cyaA*), oblasť pertaktínového génu a oblasť vonkajšieho membránového porínu. Dôkaz viacerých cieľových sekvencií *Bordetella pertussis* zvyšuje pravdepodobnosť zachytenia *Bordetella pertussis* vo vyšetrovanej vzorke. Najvhodnejším materiálom na PCR vyšetrenie je výter z nosohltanu prípadne nazofaryngeálny aspirát. Výhodou PCR oproti kultivácii je možnosť odberu materiálu v priebehu antibiotickej terapie a vzhľadom k vysokej citlivosti metódy i v neskoršom období ochorenia. Najvyššia záchytnosť však ostáva, tak ako aj pri kultivácii, v začiatočnom štádiu ochorenia. Ďalšou výhodou sú podmienky transportu materiálu určeného na vyšetrenie metódou PCR, ktoré sú menej náročné ako pri kultivácii [11, 12].

Sérologická diagnostika

Sérologické metódy sú vhodné na diagnostiku pertussis u pacientov s klinickými príznakmi ochorenia ako sú pretrvávajúci záchvatovitý kašeľ, duseň, zvracanie po záchvate kašľa. Sérologická diagnostika je zameraná predovšetkým na zistenie hladiny protilátok v daných vzorkách. Potrebné je vyšetrenie párových vzoriek séra za rovnakých laboratórnych podmienok. Prvý odber by sa mal vykonať ihneď po podozrení na ochorenie, druhá vzorka sa obvykle odoberá približne o tri týždne. Na potvrdenie ochorenia by sa mala využívať kombinácia sérologických metód dôkazu protilátok triedy IgG, IgA proti pertussickému toxínu a PCR, bez ohľadu na dĺžku trvania klinických príznakov ochorenia. Sérologickými metódami je možné potvrdiť ochorenie, prípadne slúžia na stanovenie pretrvávania protilátok po očkovaní celobunkovou vakcínou. Na dosiahnutie najlepšej senzitivity a zároveň špecificity sa na sérologickú diagnostiku odporúča využiť kvantitatívne ELISA metódy dôkazu na stanovenie prítomnosti protilátok IgG a IgA proti pertussickému toxínu [11].

CIELE PRÁCE

V našej práci sme sa zamerali na dve skupiny (muži, ženy) a podskupiny (deti a dospelí) a cieľom práce bolo štatistické rozdelenie a vyhodnotenie podľa pohlavia, vekového rozmedzia a sezónnosti.

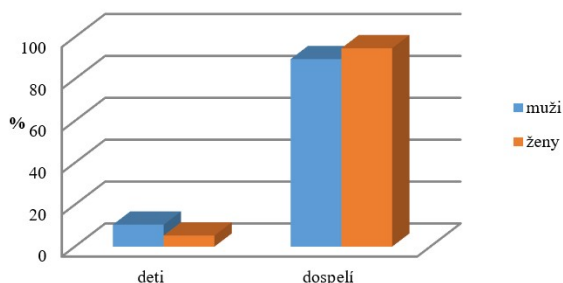
METODIKA A MATERIÁL

V období počas troch rokov sme na Oddelení kli-

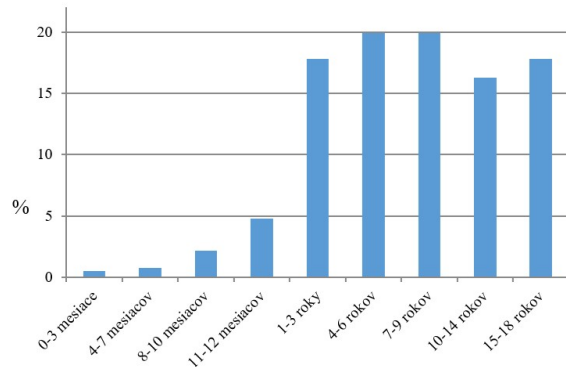
nickej mikrobiológie vydifereovali pacientov a pomocou podmienkového exportu dát súbor rozdelili na dve skupiny (muži, ženy) a podskupiny (dospelí, deti). Vzorky pacientov pochádzali prevažne z ambulancií všeobecných lekárov pre dospelých a všeobecných lekárov pre deti a dorast. Cieľom práce bolo rozdeliť skupiny podľa pohlavia, vekového rozmedzia a sezónnosti a štatisticky vyhodnotiť. Na stanovenie sme použili kvantitatívnu metódu ELISA stanovenia protilátok triedy IgG, IgA proti pertussickému toxínu *Bordetella pertussis*. Testovacia súprava ELISA je založená na kvantitatívnom *in vitro* stanovení ľudských protilátok imunoglobulínovej triedy IgG, IgA proti toxínu *Bordetella pertussis* v sére alebo v plazme pre diagnostiku infekcií spôsobených *Bordetella pertussis*, čierneho kašľa. Súprava je kalibrovaná pomocou medzinárodného séra podľa WHO štandardu a spĺňa najnovšie nároky na sérologickú diagnostiku infekcií *Bordetella pertussis*.

VÝSLEDKY

Aj napriek tomu, že pohlavie nie je považované za faktor, ktorý ovplyvňuje prítomnosť ochorenia v populácii počas troch rokov sledovania ochorenia



Graf 1 Rozdelenie pacientov: deti a dospelí za obdobie troch rokov

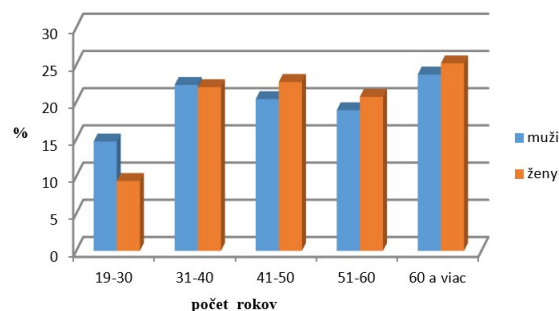


Graf 2 Vekové rozmedzie – deti

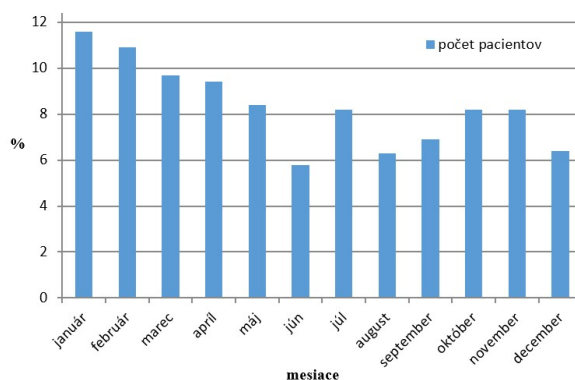
prevládalo v skupine „deti“ viac u mužského pohlavia a v skupine „dospelých“ u ženského pohlavia (Graf 1). Podľa epidemiologickej správy z roku 2014 boli vo väčšine vekových skupín dospelých častejšie postihované ženy ako muži, pričom pomer mužov a žien bol 0,8:1 u skupine „deti“ sa pohlavie neudávalo [9].

Výskyt infekcie *Bordetella pertussis* v závislosti od veku pacientov je zobrazený v grafoch 2 a 3. Vekové rozmedzie u detí sa pohybovalo od 4 do 9 rokov kedy boli zachytené najviac prípadov ochorenia *Bordetella pertussis* (Graf 2) a u dospelých prevládalo u žien aj mužov rovnaké vekové rozmedzie 60 a viac rokov (Graf 3).

Typická aktivita čierneho kašľa nemá zreteľný sezónny charakter, ale počet prípadov sa môže zvýšiť v lete aj na jeseň [9]. Štatistickým vyhodnotením sme zistili, že najvyšší počet prípadov bol zaznamenaný v januári a februári, potom postupne intenzita klesala a vystúpila v júli (Graf 4). Klinická prezentácia pertussis u dospievajúcich a dospelých môže byť mierna a často sa neuznáva a práve to môže byť riziko prenosu pre dojčatá, deti, kontaktom s infikovanou osobou a rodinou.



Graf 3 Vekové rozmedzie – dospelí



Graf 4 Rozdelenie pacientov podľa sezónnosti

DISKUSIA

Čierny kašeľ aj napriek dobrému preočkovaníu ostáva hrozbou pre verejné zdravie. Najviac postihnutou vekovou skupinou vo väčšine krajín sú deti mladšie ako jeden rok, 83 % týchto prípadov je mladších ako 6 mesiacov, čo je veková skupina príliš mladá, aby ukončila sériu primárnych očkování [13]. V niektorých členských štátoch však boli najviac postihnuté vekové skupiny dospelých, pričom väčšina prípadov bola vo veku 15 a viac rokov. Pertussis nie je len detskou chorobou ale rastúca incidencia u adolescentov a dospelých je dôvodom na obavy, pretože tieto vekové skupiny sú zdrojom prenosu u dojčiat [14, 15], najmä preto, že mierne a asymptomatické prípady u adolescentov a dospelých sú často neuznané ako pertussis [16]. Ohniská v oblastiach s vysokým stupňom očkovania poukazujú na to, že stratégie očkovania budú musieť byť opätovne preskúmané a že by sa mali zväziť posilňovače dospelých a dospelých, ako aj očkovanie zdravotníckych pracovníkov a tehotné ženy. Niektoré členské štáty už zahrnuli niektoré z týchto politík do svojho vnútroštátneho plánu očkovania. Napriek narastajúcemu počtu hlásených prípadov je pravdepodobné, že zaťaženie v Európe je stále podceňované [16]. Aby bolo možné presne vyhodnotiť zmeny v epidemiológii v priebehu času a optimalizovať kontrolu chorôb, je dôležité, aby sme naďalej zlepšovali dohľad nad pertussis, od klinického uznania až po laboratórnu diagnostiku [17].

ZÁVER

Ochorenie čierny kašeľ nielen u detskej populácie stále stúpa a predstavuje aktuálny problém v pediatrii. V poslednej dobe sa dostáva viac do povedomia lekárov ale problematika diagnostiky a interpretácia laboratórnych vyšetrení stále ostáva. *Bordetella pertussis* často ostáva nediagnostikovaná a uniká pozornosti lekárov. Zlepšený dohľad je ďalším dôležitým faktorom, ako je zvýšené povedomie o ochorení medzi klinikmi, zlepšenie prípadov a laboratórnych techník, napríklad použitie sérologických a PCR vyšetrení čo prispeje k zlepšeniu diagnózy ochorenia u dospelých a mladistvých.

ZOZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH ODKAZOV

[1] MURRAY, P., ROSENTHAL, K., PFALLER, M. *Medical microbiology*. 7th ed. Philadelphia: ElsevierSaunders 2013: 888.

- [2] RUMLAROVÁ, Š. Očkování proti černému kašli – současný stav a výhledy do budoucna. *Remedia*. 2012; 22: 82-85.
- [3] World Health Organization. Pertussis vaccines: WHO position paper. *Weekly Epidemiol Rec*. 2010; 40 (85): 385-400.
- [4] AVDIČOVÁ, M. Poznáme odpovede na otázky týkajúce sa prevencie pertussis? *Epidemiológia*. 2014; 2: 21-24.
- [5] CHERRY, J.D. Immunity of Pertussis. *CID*. 2007; 44: 1278-1279.
- [6] DE MELKER, H.E., VERSTEEGH, F.G.A., CONYN-VAN SPAENDONCH, M.A.E., et al. Specificity and Sensitivity of High Levels of Immunoglobulin G Antibodies against Pertussis Toxin in a Single Serum Sample for Diagnosis of Infection with *Bordetella pertussis*. *J Clin Microbiol*. 2000; 38: 800-806.
- [7] HIJNEN, M., HE, Q., SCHEPP, R., et al. Antibody responses to defined regions of the *Bordetella pertussis* virulence factor pertactin. *Scand J Infect Dis*. 2008; 40: 94-104.
- [8] KHELEF, N., DANVE, B., QUENTIN-MILLET, M.J., et al. *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis*: Two Immunologically Distinct Species. *Immun*. 1993; 61: 486-490.
- [9] European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report 2014. Stockholm: ECDC, 2016.
- [10] HUČKOVÁ, D., KOLLÁROVÁ, K. Možnosti včasnej diagnostiky pertussis. 2006; 181-182.
- [11] Vestník Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky, Odborné usmernenie Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky na zabezpečenie surveillance pertussis v SR, čiastka 1-3, 22.2.2013, ročník 61, str.5.
- [12] WIRSING VON KÖNIG, Ch., HALPERIN, S., RIFFELMANN, M., et al. Pertussis of adults and infants. *Lancet Infect Dis*. 2002; 2: 744-750.
- [13] CELENTANO, Z.P., MASSARI, M., PARAMATTI, D., et al. Obnova pertussis v Európe. *Pediatr Infect Dis J*. 2005; 24 (9): 761-765.
- [14] SKOFF, T.H., KENYON, C., COCOROS, N., et al. Zdroje infekcie pertussis u detí v Spojených štátoch. *Pediatrics*. 2015; 136 (4): 635-641.
- [15] WILEY, K.E., ZUO, Y., MACARTNEY, K.K., et al. Zdroje pertusovej infekcie u malých detí. *Vakcína*. 2013; 31 (4): 618-625.

- [16] TAN, T., DALBY, T., FORSYTH, K., et al. Pertussis Across the Globe: Nedávne epide-miologické trendy od roku 2000 do roku 2013. *Pediatr Infect Dis J.* 2015; 34 (9): 222-232.
- [17] GUIZO, N., BERBERS, G., FRY, N.K., et al. Čo robiť v sérologickej diagnostike pertussis: odporúčania referenčných laboratórií EÚ. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2011; 30 (3): 307-312.

VEREJNÍ ZDRAVOTNÍCI A ICH POSTOJ KU VZDELÁVANIU PUBLIC HEALTH PROFESSIONALS AND THEIR ATTITUDE TO THE EDUCATION

MIČÍKOVÁ Lucia, SIVČÁKOVÁ Lenka

Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Trenčíne, Trenčín

ABSTRAKT

Úvod: Verejné zdravotníctvo je multidisciplinárny odbor, pre ktorého správne fungovanie je potrebný neustály prílev nových informácií. V rámci pregraduálneho štúdia verejný zdravotník disponuje len všeobecnými informáciami a je dôležité vytvoriť prostredie pre kontinuálne vzdelávanie.

Materiál a metódy: Prieskum bol realizovaný v roku 2018 u verejných zdravotníkov z rôznych odvetví verejného zdravotníctva. Prieskum bol distribuovaný v Google prostredí. Prieskumu sa zúčastnilo 93 respondentov. Na vyhodnotenie prieskumu sme použili program Microsoft Excel, deskriptívnu štatistiku a pre porovnanie výsledkov chí-kvadrát.

Výsledky: Zaznamenali sme, že viac ako polovica verejných zdravotníkov z regionálnych úradov verejného zdravotníctva absolvovalo vzdelávanie. V súčasnosti študuje viac verejných zdravotníkov, ktorí pracujú v iných odvetviach verejného zdravotníctva. Najväčšia motivácia pre obe skupiny bola predovšetkým zvýšenie mzdy.

Záver: Vzdelávanie vo verejnom zdravotníctve je nevyhnutnosťou. Vnímame však limitácie a to predovšetkým z dôvodu slabej informovanosti a nízkej motivácie verejných zdravotníkov k ďalšiemu vzdelávaniu. Však je potrebné podotknúť, že verejné zdravotníctvo je závislé na nových informáciách, s ktorými musia viesť verejní zdravotníci adekvátne pracovať.

Kľúčové slová: Verejný zdravotník. Vzdelávanie. Verejné zdravotníctvo

ABSTRACT

Introduction: Public health is a multidisciplinary unit for which proper functioning requires constant influx of new information. In the undergraduate study, a public health practitioner only has general information and it is important to create an environment for continuing education.

Material and Methods: The survey was conducted in 2018 by public health professionals from various public health sectors. The survey was distributed in the Google environment. The survey was attended by 93 respondents. To evaluate the survey, we used the Microsoft Excel program, descriptive statistics and chi-square results to compare.

Results: We have noticed that more than half of public health professionals from regional public health authorities have completed education. At present, public health professionals working in other public health sectors are more likely to study. The greatest motivation for both groups is mainly the increase in wages.

Conclusion: Education in public health is a necessity. However, we perceive limitations, mainly due to poor awareness and low motivation of public health professionals to further education. However, it should be noted that public health is dependent on new information that public health professionals must know to work adequately.

Key words: Public health professional. Education. Public health

ÚVOD

V súčasnosti, kedy sa do popredia dostávajú informačno-komunikačné technológie, informatizácia sa týka každého odvetvia, vzniká naliehavá potreba disponovať odborníkmi, ktorí dokážu adekvátne pracovať s informáciami. Aby sa človek stal odborníkom vo verejnom zdravotníctve, je nevyhnutná nielen prax, ale aj kontinuálne vzdelávanie. Verejný zdravotník má k dispozícii mnoho informácií, ale ak ich nedokáže aplikovať do praxe stávajú sa často nepodstatnými. Zdravotnícki pracovníci, teda aj verejní zdravotníci majú podľa Nariadenia vlády č. 296/2010 Z. z. o odbornej spôsobilosti na výkon zdravotníckeho povolania, spôsobe ďalšieho vzdelávania zdravotníckych pracovníkov, sústave špecializačných odborov a sústave certifikovaných pracovných činností v znení neskorších predpisov [1], možnosti kontinuálneho vzdelávania vo forme špecializovaných odborov ako aj certifikovaných činností. Aby verejný zdravotník bol odborníkom vo svojej profesii, je potrebné zahrnúť spoluprácu s inými sektormi na riešenie širších determinantov zdravia s ostatnými zdravotníckymi pracovníkmi [2]. Týmto príspevkom chceme upriamiť pozornosť na kontinuálne vzdelávanie verejných zdravotníkov a nadviazať na článok publikovaný v minulom čísle Zdravotníckych listov, kde sme uvádzali čiastkové výsledky prieskumu záujmu a motivácie verejných zdravotníkov o ďalšie vzdelávanie. Pričom aktuálne sa zameriavame aj na porovnanie verejných zdravotníkov pracujúcich v štátnej správe (regionálne úrady verejného zdravotníctva) a verejných zdravotníkov z iných odvetví (nemocnice, pracovné zdravotné služby, akademická pôda...).

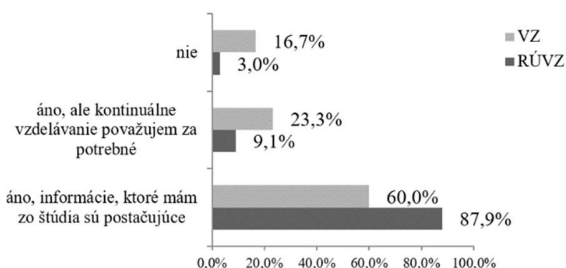
SÚBOR A METÓDY

Pre zistenie záujmu o edukáciu verejných zdravotníkov o vzdelávanie sme využili neštandardizovaný dotazník, ktorý bol distribuovaný v Google prostredí. Prieskum bol realizovaný v roku 2018

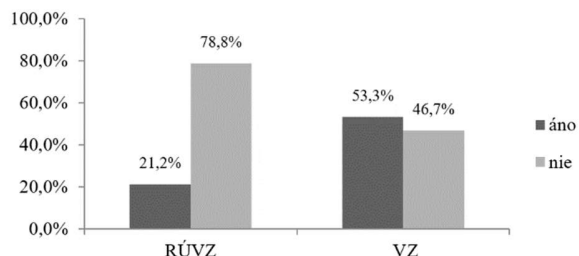
u verejných zdravotníkov pracujúcich v rôznych oblastiach verejného zdravotníctva. Sledovaný súbor pozostával z 93 respondentov – verejných zdravotníkov, a to predovšetkým zo štátnej správy a z verejnej správy a súkromného odvetvia. Na spracovanie výsledkov sme využili program Microsoft Excel 2010. Interpretovali sme ich pomocou deskriptívnej štatistiky (grafov a tabuliek). Pre porovnanie sme zvolili chí-kvadrát, pričom za hladinu významnosti sme považovali $p < 0,05$.

VÝSLEDKY

Súbor bol tvorený 93 respondentmi s celkovým priemerným vekom $36,4 \pm 9,9$ roka. Viac ako tri štvrtiny respondentov (88,9 %) boli vysokoškolsky vzdelaní, 11,1 % pracovníkov malo stredoškolské vzdelanie. Na regionálnych úradoch verejného zdravotníctva (RÚVZ) pracovalo 52,3 % pracovníkov, 47,7 % boli verejní zdravotníci (VZ), ktorí pracovali v inom odvetví verejného zdravotníctva (nemocnice, pracovné zdravotné služby, akademická pôda...). Pri otázke, či považujú svoje vzdelanie za dostatočné, 60,0 % verejných zdravotníkov pracujúcich v inom odvetví uviedlo, že považujú svoje vzdelanie za dostatočné a informácie, ktoré majú zo štúdia sú postačujúce. Túto odpoveď uviedlo 87,9 % pracovníkov RÚVZ. Kontinuálne vzdelávanie považuje za potrebné len 9,1 % pracovníkov RÚVZ a 23,3 % verejných zdravotníkov z iných od-



Graf 1 Percentuálne zastúpenie respondentov podľa vzdelania



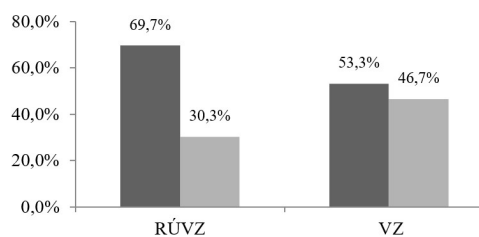
Graf 2 Percentuálne zastúpenie respondentov podľa štúdia

vetví. 16,7 % pracovníkov z iného odvetvia verejného zdravotníctva si myslí, že ich vzdelanie je nedostatočné, túto odpoveď si vybrali 3 % pracovníkov RÚVZ (Graf 1). Zistili sme signifikantný rozdiel medzi RÚVZ a VZ v tom, či považujú svoje vzdelanie za dostačujúce. RÚVZ štatisticky významne častejšie považovali svoje vzdelanie za postačujúce ($p < 0,05$).

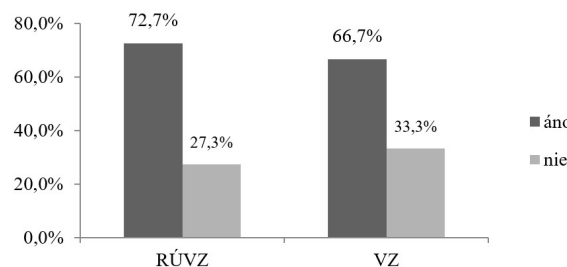
V ďalšej otázke sme zisťovali, či respondenti v súčasnosti študujú. Až 78,8 % respondentov pracujúcich na RÚVZ v súčasnosti neštuduje, taktiež túto odpoveď uviedlo 46,7 % respondentov z iných odvetví verejného zdravotníctva, u ktorých naopak študovalo až 53,3 % a u pracovníkov RÚVZ 21,2 % pracovníkov (Graf 2). Štatisticky významne častejšie študovali VZ z iných odborov ($p < 0,05$).

Pri doplňujúcej otázke, čo respondenti študujú, najčastejšie uvádzali špecializačné štúdium Master of public health (MPH), nasledovali rigorózne konanie a vysokoškolské štúdium III. stupňa. Ako dôvod, pre štúdium, respondenti najviac udávali, prácu alebo získanie nových vedomostí.

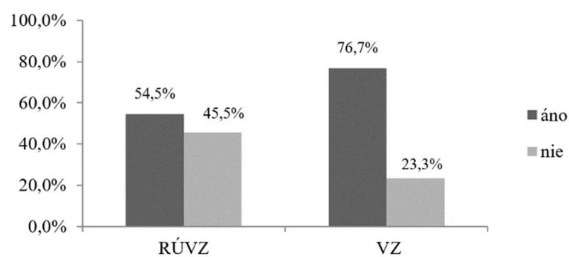
Ďalej nás zaujímalo, či počas praxe respondenti absolvovali nejaký druh ďalšieho vzdelávania, špecializácie alebo certifikovanej pracovnej činnosti. Až 69,7 % respondentov z RÚVZ a 53,3 % respondentov z iných odvetví verejného zdravotníctva odpovedalo nie. Žiadne ďalšie vzdelanie neabsolvovalo 30,3 % pracovníkov RÚVZ a 46,7 % ostatných



Graf 3 Percentuálne zastúpenie absolvovania ďalšieho vzdelávania



Graf 4 Percentuálne zastúpenie podľa možnosti štúdia



Graf 5 Percentuálne zastúpenie záujmu o štúdium

verejných zdravotníkov (Graf 3). Signifikantný rozdiel o absolvovaní ďalšieho štúdia medzi RÚVZ a VZ sme nezistili ($p = 0,1816$).

Ako najčastejšie absolvované vzdelanie boli predovšetkým špecializácie u pracovníkov RÚVZ a potom rôzne ďalšie formy ako sú kurzy a certifikáty.

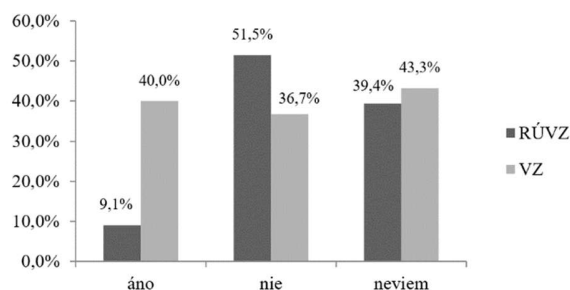
V nasledujúcej otázke sme sa pýtali respondentov, či im v súčasnosti zamestnávateľ poskytuje možnosti pre vzdelávanie. Až 72,7 % respondentov RÚVZ uviedlo, že áno, tú možnosť uviedlo aj 66,7 % respondentov z iného odvetvia verejného zdravotníctva. Možnosť nie uviedlo 33,3 % respondentov z iných odvetví verejného zdravotníctva a 27 % pracovníkov RÚVZ (Graf 4). Štatisticky signifikantný rozdiel o absolvovaní vzdelania sme medzi RÚVZ a VZ nezistili ($p = 0,6006$).

Ako najčastejšiu odpoveď pri doplňkovej otázke o akú formu vzdelávania sa jedná, pracovníci RÚVZ najčastejšie uvádzali interné semináre na pôde RÚVZ, pracovníci z iných odvetví verejného zdravotníctva uvádzali účasť na konferenciách alebo študijné voľno.

Respondentov sme sa pýtali, či by mali záujem o ďalšie vzdelávanie. Väčšina verejných zdravotníkov z iných odvetví verejného zdravotníctva (76,7 %) uviedla, že by záujem mali, 23,3 % nemá o štúdium záujem. U pracovníkov RÚVZ môžeme sledovať podobné výsledky, 54,5 % respondentov by malo záujem o štúdium a 45,5 % nie (Graf 5). Štatisticky signifikantný rozdiel medzi RÚVZ a VZ o záujme o ďalšie vzdelávanie sme nezistili ($p = 0,0658$).

Najčastejšie respondenti uvádzali, že majú záujem o špecializačné štúdium v odbore, v ktorom pracujú, nasledovali MPH štúdium a rigorózne konanie.

Pri otázke, či si respondenti myslia, že sú možnosti štúdia dostatočné, 51,5 % pracovníkov RÚVZ uviedlo, že nie sú, 9,1 % uviedlo, že sú dostatočné



Graf 6 Percentuálne zastúpenie o možnostiach štúdia

a 39,4 % sa nevedelo k otázke vyjadriť. U respondentov z ostatných odvetví verejného zdravotníctva 36,7 % uviedlo, že nie sú dostatočné, 40,0 % zadalo možnosť, že ich za dostatočné považuje a 43,3 % respondentov sa nevedelo k otázke vyjadriť (Graf 6).

Zistili sme štatisticky významný rozdiel medzi skupinami o možnostiach štúdia ($p = 0,0374$).

V poslednej otázke sme sa pýtali respondentov, čo by ich motivovalo k tomu, aby si zvyšovali kvalifikáciu prostredníctvom ďalšieho vzdelávania. Respondenti mohli uviesť viac odpovedí. Najviac respondentov oslovilo zvýšenie mzdy (66,7 %), nasledovalo zvýšenie odbornej kvalifikácie (63,5 %), kariérny postup (54,0 %). Nič by nemotivovalo 3,17 % respondentov, 1,6 % respondentov uviedlo iný názor „študuje lebo ho to zaujíma“ (Tabuľka 1).

Tabuľka 1 Motivácia pre zvyšovanie kvalifikácie

Druh motivácie	Podiel
zvýšenie mzdy	66,7 %
zvýšenie odbornej kvalifikácie	63,5 %
kariérny postup	54,0 %
nič by ma nemotivovalo, nemám o štúdium záujem	3,17 %
iné	1,6 %

DISKUSIA

Verejné zdravotníctvo môžeme považovať za jeden z hlavných vektorov, ktoré určujú smerovanie starostlivosti o verejné zdravie. Odborník vo verejnom zdravotníctve musí mať manažérske zručnosti, štatistické hodnotenie a medicínske uvažovanie [3]. Tieto kompetencie dosiahneme iba za predpokladu, že verejný zdravotník bude mať záujem o kontinuálne štúdium, ktoré je nevyhnutné pri vykonávaní tohto povolania, či už v štátnej správe alebo v iných odvetviach verejného zdravotníctva.

Pozorujeme vysoký tlak verejnosti na kvalitu vzdelávania a zaradenie absolventov do pracovného

procesu. Výnimkou nie je ani študijný odbor verejné zdravotníctvo. Tento multidisciplinárny odbor v sebe zahŕňa rôzne prvky zdravotníctva od kliniky cez prevenciu až po informatiku a štatistiku. V samotnej podstate sa jedná o vedu o ochrane a zlepšení zdravia ľudí a spoločností [4]. Preto je potrebné sa vo vzdelávaní zamerať na využívanie moderných prostriedkov, ktoré pomôžu tomu, aby sa z absolventa tohto odboru stal flexibilný erudovaný pracovník v tejto oblasti. Verejný zdravotník má v svojej kompetencii vedenie vedeckého výskumu, vzdelávanie v oblasti zdravia verejnosti až po zabezpečenie podmienok pre zdravie ľudí [5].

Z nášho prieskumu vyplýva, že záujem o štúdium môžeme pozorovať skôr u pracovníkov mimo RÚVZ. Viac ako tri štvrtina pracovníkov považuje svoje vzdelanie za dostatočné. Tento fakt, môže vyplývať predovšetkým z toho, že zatiaľ čo pracovníci RÚVZ pracujú predovšetkým s legislatívou a vykonávajú kontrolnú činnosť, verejní zdravotníci napr. z akademickej pôdy majú širší pohľad na verejné zdravotníctvo a jeho fungovanie nielen na Slovensku, ale aj v zahraničí. Náš prieskum ukázal, že študuje viac ako polovica pracovníkov z iného odvetvia verejného zdravotníctva. Viac ako tri štvrtina pracovníkov na RÚVZ v súčasnosti neštuduje. Ostatní uviedli ako najčastejšie, že študujú Master of public health (MPH). Predpokladáme, že toto štúdium si vybrali predovšetkým preto, lebo absolvovanie študijného odboru odborník na riadenie vo verejnom zdravotníctve (Master of Public Health) sa považuje za jeden z predpokladov na miesto vedúceho oddelenia alebo štatutárneho zástupcu. Je potrebné konštatovať, že viac ako polovica pracovníkov RÚVZ absolvovala v minulosti nejakú formu vzdelávania a to predovšetkým špecializáciu. V minulosti musel každý absolvent, ktorý mal ukončené stredoškolské vzdelanie v odbore asistent hygieny a epidemiológie, absolvovať špecializačné štúdium, ktoré bolo zamerané priamo na oddelenie, na ktorom pracoval. Považujeme za naliehavú potrebu, aby sa takáto forma vzdelávania vrátila opäť. Takýto druh štúdia by sa mal prioritne zameriavať predovšetkým na pracovníkov RÚVZ, aj keď v Nariadení vlády č. 296/2010 Z.z. môžeme sledovať rôzne špecializácie.

Z nášho prieskumu vyplýva, že viac ako polovica zamestnávateľov poskytuje svojim zamestnancom nejakú formu vzdelávania. Sústavné vzdelávanie sa uskutočňuje v akreditovaných študijných programoch sústavného vzdelávania – špecializácia

a certifikované činnosti alebo v neakreditovaných vzdelávacích aktivitách. Neakreditovanou vzdelávacou aktivitou sa rozumie jednorazová vzdelávacia aktivita [6].

U pracovníkov RÚVZ sa jedná predovšetkým o interné semináre realizované v rámci pracoviska. Úlohou týchto seminárov je predovšetkým informovať kolegov o aktualitách na rôznych oddeleniach, ale aj to, že za tieto semináre verejný zdravotník dostane kredity, ktoré je povinný odovzdať komore, v ktorej je registrovaný. Pozitívne vnímame fakt, že sa verejný zdravotník dozvie, čo sa aktuálne deje na ďalších oddeleniach na jeho pracovisku. U verejných zdravotníkov z iných odvetví sa ako najčastejšia forma štúdia uvádzajú rôzne semináre a jazykové kurzy. Predpokladáme, že je to predovšetkým z toho dôvodu, že súkromný sektor má väčšie možnosti pri financovaní vzdelávacích aktivít ako RÚVZ.

Viac ako polovica oslovených respondentov má záujem o ďalšie vzdelávanie [7].

Počas špecializačného štúdia sa verejný zdravotník učí vykonávať špecializované pracovné činnosti. O zaradenie do špecializačného štúdia môže zamestnanec požiadať sám, alebo prostredníctvom svojho zamestnávateľa. V rámci verejného zdravotníctva sa špecializačné štúdium zameriava na rôzne odbory od epidemiológie, preventívneho pracovného lekárstva až po zdravotnícku informatiku a štatistiku [8]. Je potrebné konštatovať, že aj keď nariadenie vlády ponúka možnosti mnohých špecializácií, v súčasnosti sú mnohé obmedzené a nedostupné. Je možné, že práve z tohto dôvodu väčšina respondentov uviedla, že možnosti pre vzdelávanie nie sú dostatočné alebo, že nevedia aké sú. Nedostatok informácií o možnostiach štúdia je často limitujúci faktor, prečo sa verejný zdravotník ďalej nevídeľ. Okrem tohto faktoru často býva nedostatočne motivovaný. Nami oslovení verejní zdravotníci považujú za najväčšiu motiváciu predovšetkým finančné ohodnotenie, zvýšenie odbornej kvalifikácie, či kariérny postup. Aj dnes sa stretávame so situáciami, kde erudovaní odborníci vo svojom odbore zastávajú miesta rádových zamestnancov. Preto mnoho verejných zdravotníkov odchádza do súkromného sektoru, kde sú často vytvorené vhodnejšie podmienky pre kariérny postup, ale aj možnosti pre vzdelávanie sú väčšie.

Vzdelávanie verejných zdravotníkov na Slovensku sa musí prispôbovať aktuálnym trendom v spoločnosti. Súhrnom nášho prieskumu vyplýva,

že verejný zdravotník považuje vzdelanie za potrebné a má oň záujem avšak nemá dostatočné možnosti, kde ho realizovať.

ZÁVER

Problematika vzdelávania je v súčasnosti vysoko aktuálna. Pozorujeme tlak na kvalitu nielen vysokého školstva, ale aj sústavného vzdelávania. Je evidentné, že možnosti štúdia verejného zdravotníctva, sú nedostatočné a vzniká potreba túto situáciu riešiť. Predovšetkým zvýšením povedomia verejných zdravotníkov o možnostiach vzdelávania, ale aj zjednodušenie prístupu k špecializácii v jednotlivých odboroch. Verejný zdravotník je povolanie, v ktorom je človek povinný vzdelávať sa celý život. Verejné zdravie je nesmierne dôležité lebo odráža zdravie celej spoločnosti a iba erudovaní odborníci vo verejnom zdravotníctve vedú adekvátne zhodnotiť a podávať informácie potrebné pre správne fungovanie verejného zdravotníctva.

ZOZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH ODKAZOV

- [1] Nariadenie vlády Slovenskej republiky 296/2010 o odbornej spôsobilosti na výkon zdravotníckeho povolania, spôsobe ďalšieho vzdelávania zdravotníckych pracovníkov, sústave špecializačných odborov a sústave certifikovaných pracovných činností.
- [2] WORDL HEALTH ORGANIZATION. *European Action Plan for Strengthening Public Health Capacities and Services*. [online] 2012. [cit. 2018-12-10]. Dostupné na internete: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/Health-systems/public-health-services/public-health-services>
- [3] MORICOVÁ, Š. Verejné zdravotníctvo – hlavné úlohy a ciele. *Verejné zdravotníctvo*. 2010; VII (4): [cit. 2018-12-10]. Dostupné na internete: <http://verejnezdravotnictvo.szu.sk/SK/2010/4/editorial.pdf>
- [4] CDC FOUNDATION, 2018. *What Is Public Health?*. [online] 2018. [cit. 2018-11-15]. Dostupné na internete: <https://www.cdcfoundation.org/what-public-health>
- [5] AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *What Is Public Health?*. [online] 2018. [cit. 2018-11-15]. Dostupné na internete: <https://www.apha.org/what-is-public-health>
- [6] SLOVENSKÁ KOMORA MEDICÍNSKO-TECHNICKÝCH PRACOVNÍKOV, 2018. *Smernica systému hodnotenia sústavného vzdelávania SK MTP*. [online] 2018. [cit. 2018-11-25]. Dostupné na internete: <http://www.sekmtp.sk/dokumenty/smernica-systemu-hodnotenia-sustavneho-vzdelavania-sk-mtp>
- [7] SLEZÁKOVÁ, Z. 2016, Vzdelávanie zdravotníckych pracovníkov. [online] 2018. [cit. 2018-11-15]. Dostupné na internete: https://www.npz.sk/sites/npze/Stranky/NpzArticles/2013_06/Vzdelavanie_zdravotnickych_pracovnikov.aspx?did=4&sdid=15&tuid=0&page=full&
- [8] MIHINOVÁ, D., et al. Ďalšie vzdelávanie v oblasti Verejného zdravotníctva na slovensku – minulosť a súčasnosť. *Hygiena*. 2012; 57 (1): 22-26.

**ODBERY VZORIEK OVZDUŠIA NA STANOVENIE MIKROBIOLOGICKÝCH
UKAZOVATEĽOV VO VNÚTORNOM PROSTREDÍ BUDOV
COLLECTING OF AIR SAMPLES FOR THE DETERMINATION OF MICROBIOLOGICAL
INDICATORS IN THE INDOOR ENVIRONMENT OF BUILDINGS**

KANIKOVÁ Milada^{1,2}, UMRIAN Marián^{1,2}, KNOŠKOVÁ Eliška³

¹ Odbor objektivizácie faktorov životných podmienok, Úrad verejného zdravotníctva Slovenskej republiky, Bratislava

² autor je študentom doktorandského štúdia na Vysokej škole zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety, Bratislava

³ Vysoká škola zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety, Bratislava

ABSTRAKT

V poslednom období požiadavky na mikrobiologickú kontrolu kvality vnútorného prostredia majú rastúcu tendenciu. Aby tieto vyšetrenia mali skutočnú výpovednú hodnotu, je potrebné klásť veľký dôraz aj na správnu techniku odberov. Správny odber vzoriek by mal viesť k odhaleniu zdrojov znečistenia ovzdušia. Len na základe takýchto zistení je možné prijať nápravné opatrenia, ktoré zabezpečia vyhovujúce vnútorné ovzdušie.

Kľúčové slová: Odbery. Vnútorné prostredie budov. Ovzdušie. mikroskopické vlákniť huby. Mikrobiologická kontrola

ABSTRACT

Recently, requirements for microbiological control of the quality of the indoor environment have an increasing tendency. It is necessary to give great attention to the correct technique of collections, to these examinations have a true value. Correct sampling should lead to the detection of sources of air pollution. Only on the basis of these findings can we take corrective actions to provide a conforming indoor air.

Key words: Collections. indoor environment of buildings, Air. Microscopic fibrous fungi. Microbiological control

ÚVOD

Energetická kríza a s ňou spojený nárast cien všetkých druhov energií viedli k zmenám v konštrukčno-stavebnom riešení budov, budovaniu tzv. utesnených budov s cieľom zabrániť únikom tepla. Obmedzilo sa aj prirodzené vetranie vnútorných priestorov. Pozitívny efekt spočívajúci v úspore energie priniesol so sebou aj menej priaznivé efekty ako nevhodné vnútorné prostredie so sklonom k tvorbe plesní [1].

Plesne (mikroskopické vlákniť huby) sú mikroorganizmy, ktoré sú súčasťou nášho životného prostredia. Vyskytujú sa vo vode, pôde, ovzduší a bežne sú okom neviditeľné. Významné sú ich rozmnožovacie výtrusy – spóry, ktoré sú uvoľňované do ovzdušia a kontaminujú ďalšie predmety a priestory. Po premnožení sa na postihnutých miestach

vytvoria okom viditeľné zliate škvrny tmavého, sivého až čierneho, prípadne zelenkastého alebo hnedastého sfarbenia. Plesne na život nepotrebujú veľa, sú nenáročné na živiny, darí sa im vo vlhkom prostredí, nepotrebujú na svoj rast svetlo, ale potrebujú kyslík. Ako zdroj živín využívajú nábytok, podlahové krytiny, omietky, murivo, sklo alebo dlaždice, znečistené organickými zvyškami. Rastú v širokom rozmedzí teplôt 20-35 °C a dokážu si vhodne upraviť pH substrátu, v ktorom rastú. Hlavnou príčinou rozvoja plesní v bytoch a domoch je zvýšená vlhkosť, keď dochádza k narušeniu rovnováhy medzi zdrojom a odvádzaním vlhkosti, a tak je narušená vnútorná klíma budovy.

Počas celého života sa u človeka prejavuje vysoká senzitivita k plesniam, ktorých expozícia vo vnútornom prostredí je väčšia než vo voľnom ovzduší. Okrem toho, že ich môže sprevádzať nepríjemný zápach, môžu spôsobovať rozličné zdravotné problémy a alergické reakcie. Plesne v bytoch a domoch predstavujú závažný problém na zdravie ľudí, pretože môžu byť zdrojom toxických látok – mykotoxínov. Okrem toho sú plesne uvádzané ako významné alergény a ochorenia z nich sa vyskytujú čoraz častejšie.

Kedysi bol problém vzniku plesní dávany do súvislosti v zle izolovaných suterénoch. Dnes je to problém najmä zle realizovaných striech a priepustnosti fasádnych panelov. Nárast plesní býva spôsobený nielen konštrukčno-stavebnými chybami, nesprávnou izoláciou spôsobujúcou zatekanie, ale aj nesprávnou údržbou bytov a nedostatočným vetraním. Tepelná izolácia fasád, používanie parozábran, ako aj vysokotesné plastové okná znižujú priedušnosť stien a tým prirodzené vetranie, v dôsledku čoho dochádza k zvyšovaniu obsahu sploďín dýchania, zvyšuje sa vlhkosť prostredia a následne aj počet mikroorganizmov. Pozitívny

efekt spočívajúci v úspore energie prináša so sebou aj menej priaznivé efekty, ktoré treba eliminovať režimom vetrania [1].

Pri zatepľovaní budov je veľmi dôležité, aby odborník – projektant, vyrátal vhodnú hrúbku zateplenia pre dané podmienky, aby sa nestalo, že sa problém plesní zateplením neodstráni alebo naopak objaví. Musí sa navrhnuť dostatočná hrúbka izolácie, ktorá zaručí, že vnútorné miesta budú mať povrchovú teplotu vysoko nad teplotou rosného bodu za daných podmienok. Zdanlivo jednoduchým doplnkom tepelnej izolácie v podobe parozábrany môžeme pri nesprávnom použití napáchať veľké škody. Kvalitná parozábrana však môže posilniť izolačné vlastnosti domu. Parozábrana alebo parotesná vrstva je fólia, ktorá obmedzuje alebo zabráňuje prenikaniu vodnej pary obsiahnutej vo vzduchu do konštrukcie stavby. Ak vodné pary do konštrukcie prestupujú, ich kondenzácia a následná vlhkosť znižuje účinnosť tepelnej izolácie. Okrem nebezpečenstva vzniku plesní hrozí i výrazné zvýšenie tepelnej vodivosti konštrukcie a zatekanie skondenзованej vody do stien. Stáva sa to preto, že kvôli ďalším hydroizolačným vrstvám nemá para ani kondenzát z konštrukcie kam ďalej unikať. Základom správneho použitia akéhokoľvek typu parotesniacej fólie je jej súvislé polozenie bez akýchkoľvek dier, otvorov a prestupov, ktorými by mohla para do konštrukcie ďalej prenikať. Okrem iného sa plesne často objavujú aj v nových budovách v súvislosti s novým a vlhkým stavebným materiálom [2].

Odber vzoriek vody na mikrobiologickú analýzu

Práve z vyššie uvedených dôvodov v poslednom období rastú požiadavky na mikrobiologickú kontrolu kvality vnútorného prostredia.

Aby tieto vyšetrenia mali skutočnú výpovednú hodnotu, je potrebné klásť veľký dôraz aj na správnu techniku odberov. Vzorky ovzdušia sa odoberajú na sterilné selektívne živné odberové médiá v petriho miskách aktívnym nasávaním aeroskopom, ktorý podlieha metrologickej nadväznosti. Zásady pri odbere:

- uskutočňujú sa dva paralelné odbery ovzdušia na stanovenie mikrobiologických ukazovateľov a to v strede miestnosti v inhalačnej zóne alebo v miestach predpokladanej zvýšenej kontaminácie,
- doba medzi paralelnými odbermi by mala byť min. 10 a max. 30 minút,

- vzorkuje sa od menej kontaminovaných zón k viac kontaminovaným,
- počas odberu vzoriek je nutné vylúčiť akúkoľvek kontamináciu, čo znamená, že medzi jednotlivými sériami odberov sa odberová hlava sterilizuje pri teplote 121 °C po dobu 0,5 hodín a medzi jednotlivými odbermi je odberová hlava a horná časť prístroja vyčistená dezinfekčným prostriedkom [3].

Odbery vzoriek ovzdušia sa vykonávajú na stanovenie mikrobiologických ukazovateľov, ktoré sú uvedené vo vyhláske MZ SR č. 259/2008 Z. z. o podrobnostiach o požiadavkách na vnútorné prostredie budov a o minimálnych požiadavkách na byty nižšieho štandardu a na ubytovacie zariadenia v znení vyhlásky MZ SR č. 210/2016 Z. z., ktorou sa mení a dopĺňa vyhláska MZ SR č. 259/2008 Z. z. [4].

Označovanie vzoriek, manipulácia so vzorkami, záznamy o odbere, doprava a skladovanie vzoriek

Vzorky ovzdušia sa okamžite po odbere jednoznačne identifikujú. Označenie musí byť odolné, nesmie byť nečitateľné alebo znehodnotené. Na každej vzorke musí byť vyznačený dátum odberu vzorky a číslo vzorky. Označenie vzoriek zabezpečuje terénny pracovník pri odbere a následne ich zapíše do odberového listu. Okrem tohto je povinný vyplniť aj ostatné údaje ako dátum a čas odberu, miesto odberu a jeho popis, typ vzorky, objem nasávaného vzduchu, čas nasávania a prietok vzduchu, podmienky prostredia, meno odoberajúceho pracovníka, dátum a spôsob doručenia vzorky do laboratória, všetky pozorovania a iné neočakávané skutočnosti, ktoré sa vyskytli počas odberu a ktoré by mohli mať vplyv na konečné výsledky stanovenia.

Odberový list identifikuje a sprejádza vzorku počas celého odberu a analýzy.

Odobraté vzorky chránené pred svetlom a pri teplote 5 ± 3 °C treba v čo najkratšom čase dopraviť do laboratória na vyšetrenie. Vzorky musia byť vhodne oddelené od chladiaceho média a zaistené tak, aby nedošlo pri ich transporte k poškodeniu alebo znehodnoteniu vplyvom otrasov [3, 5].

Preventívne opatrenia

Vždy je lepšie predchádzať vzniku plesní ako ich likvidovať. Ich výskytu sa dá zabrániť tak, že sa vytvorí prostredie, v ktorom plesne nemajú šancu:

- dostatočné prirodzené vyschnutie novostavieb pred ich uvedením do prevádzky,

- voľba vhodného tvaru strechy zaisťujúcej rýchly odvod vody,
- starostlivosť o strešnú krytinu, udržiavanie funkčnosti odkvapov a dažďových zvodov,
- dobre vybudovaná hydroizolácia a drenáž budovy,
- zakrytie komínov (vlhkosť muriva vstrebaná nezakrytým, nepoužívaným komínom predstavuje vlhkosť rezervoár, ktorý sa vysušuje aj niekoľko rokov),
- udržiavanie funkčnosti rozvodov vody a kanalizácie,
- pravidelná kontrola ústredného kúrenia a vodovodných batérií (tesnosť kohútikov),
- rýchla a včasná oprava chýb vzniknutých v rozvodoch (zamedzí sa dlhodobému úniku vody alebo splaškov do muriva),
- použitie preventívnych konzervačných prostriedkov proti výskytu plesní (napr. náterové hmoty, farby, ochranné prípravky na drevo a murivo) pri osádzaní omietky alebo maľovaní použitie špeciálnych prípravkov, ktoré sa vmiešajú do omietky či maľovky,
- inštalácia účinného odsávacieho zariadenia v najrizikovejších miestach v bytoch a domoch (kuchyne a kúpeľne), ktoré bude odvádzať nadbytočnú vlhkosť, pranie, varenie a hlavne sušenie prádla v byte a slabé prirodzené vetranie umožňujú kondenzáciu vzdušnej vlhkosti na povrchu interiéru,
- vetranie, výmena vzduchu prebieha i cez špáry okien a dverí, preto pri inštalácii niektorých typov plastových okien a tesnení do okien (proti hluku a prachu) je potrebné myslieť na zmenené klimatické podmienky a vetrať častejšie. Miestnosti bez okien a skrine vstavané do steny je potrebné vybaviť vetracím systémom. Čo sa týka prevencie v obývačke či spálni, mal by sa nábytok rozmiestniť tak, aby medzi ním a stenou bola medzera. Ak sa plesne usadili v byte za skriňami, je potrebné odsunúť nábytok aspoň 5-10 cm od steny, aby sa vytvorila možnosť prúdenia vzduchu okolo steny. Ak sa nedá zbaviť nadbytočnej vlhkosti v dome či byte, treba použiť aj odvlhčovače. Podľa odborníkov je najlepšie vetrať dva až trikrát denne, krátko a intenzívne. Vzduch sa vymení, ale nevychladí. Ráno, po príchode z práce a pred spaním. Vetrať by sa malo rýchlo a intenzívne, aby sa ochladil vzduch v miestnosti, ale podlahy a steny ostali súčasne teplé. V praxi to znamená, že treba otvoriť okná

naplno na *päť minút* (počas zimy). Čím je vonku chladnejšie, tým kratšia doba postačí. *Pri mrazoch* je ideálne takto vetrať *tri minúty*.

Relatívna vlhkosť by sa mala pohybovať pod 50 %, a teplota v izbe počas neprítomnosti by sa nemala znižovať pod 20 °C. Vo vykurovacom období by rozdiel medzi dennými a nočnými teplotami nemal presiahnuť viac ako 5 °C. Tým sa zabráni kondenzácii pary na vychladených miestach a v nevyhriatych priestoroch. Platí, že v suchom vzduchu a na suchých konštrukciách plesne nerastú [1, 6].

ZÁVER

Keďže 85 až 90 % svojho života prežijeme „zavtorení“, je potrebné pre zabezpečenie zdravia ľudí a ich pohody vhodné vnútorné prostredie. Prostredie bezprostredne vplýva na organizmus človeka, preto pre zabezpečenie zdravia ľudí a ich pohody je potrebné vhodné vnútorné prostredie. Preto problematika vnútorného prostredia je jednou z hlavných priorít verejného zdravotníctva, ktoré vyplýva zo zákona č. 355/2007 Z. z. o ochrane, podpore a rozvoji verejného zdravia a o zmene a doplnení niektorých zákonov [7]. Okrem kontroly kvality prostredia sa veľká dôležitosť kladie aj na správny odber, ktorý by mal viesť k odhaleniu prameňov znečistenia vzduchu, pretože len na základe takýchto zistení je možné prijať účinné opatrenia, ktoré vedú k zabezpečeniu pozitívneho vnútorného ovzdušia pre ľudí.

ZOZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH ODKAZOV

- [1] *Užitočné informácie o plesniach*. Úrad verejného zdravotníctva Slovenskej republiky, Bratislava. 2013. [online]. [citované 2019-01-05]. Dostupné na internete: http://www.uvzs.sk/index.php?option=com_content&view=article&id=2107%3Auitone-informacie-onplesniach&catid=101%3Avnutorne-prostredie-a-zdravie&Itemid=106
- [2] BOHUSLAV, P. 2019. *Lze se rozumným způsobem bránit plísním? Odborný portál pro stavebnictví a technická zařízení budov*. [online]. [citované 2019-01-04]. Dostupné na internete: <https://vetrani.tzb-info.cz/18483-lze-se-rozumnym-zpusobem-branit-plisnim>
- [3] Standardní operační postupy pro vyšetřování mikroorganismů v ovzduší a pro hodnocení mikrobiologického znečištění ovzduší ve vnitřním prostředí. *Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica*. 2002; 1: ISSN 0862-5956.

- [4] Vyhláška MZ SR č. 259/2008 Z. z. o podrobnostiach o požiadavkách na vnútorné prostredie budov a o minimálnych požiadavkách na byty nižšieho štandardu a na ubytovacie zariadenia v znení neskorších predpisov.
- [5] STN EN ISO/IEC 17025: 2005 Všeobecné požiadavky na kompetentnosť skúšobných a kalibračných laboratórií. SÚTN, Bratislava, 2005
- [6] *Plesne v bytoch a domácnostiach*. Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Topoľčanoch. [online]. [citované 2019-01-05]. Dostupné na internete: http://www.ruvzto.sk/AKTUALITY_M.html
- [7] Zákon 355/2007 Z.z. zákon o ochrane, podpore a rozvoji verejného zdravia a o zmene a doplnení niektorých zákonov.

Recenzované abstrakty z vedeckej konferencie

ZdravLab 2019

konanej v dňoch

7. – 8. februára 2019 v Trenčíne

VPLYV OSOBNÝCH OCHRANNÝCH PROSTRIEDKOV NA VÝVOJ MUSKULO-SKELETÁLNYCH PROBLÉMOV V SKUPINE PRACOVNÍKOV INTERVENČNEJ RÁDIOLÓGIE

BÁRDYOVÁ Z.¹, HORVÁTHOVÁ M.¹,
RECHTORÍKOVÁ V.², BALÁZS T.³, VULEV I.³

¹ FZaSP, Trnavská univerzita v Trnave, Trnava

² Slovenská zdravotnícka univerzita v Bratislave, Bratislava

³ CINRE, Bratislava

Muskuloskeletálne problémy, resp. problémy svalov a kostí sú v súčasnosti čoraz častejšie diskutovanou verejno-zdravotníckou témou. O závažnosti tejto problematiky svedčí najmä stúpajúca prevalencia, pracovneschopnosť, hospitalizovanosť a rôzne chirurgické zákroky. Ku všeobecne známym prejavom patria bolesti lumbálnej a cervikálnej chrbtice, ktoré sú v celej populácii bežné. No vzhľadom k vykonávanej profesii vieme určiť aj rizikové skupiny tejto populácie. Príkladom sú pracovníci intervenčnej rádiológie, ktorí sú vystavení čoraz väčšej fyzickej záťaži. Príčinou sú hmotnosťou ťažké osobné ochranné pomôcky s ekvivalentom olova (OOPP), ktoré sa pri intervenčných výkonoch využívajú v dlhých časových intervaloch. Vplyv OOPP na výskyt muskuloskeletálnych problémov v skupine intervenčných rádiológov sa stal predmetom diskusie mnohých štúdií. OOPP sú však z dôvodu ochrany zdravia pred nežiaducim biologickým účinkom ionizujúceho žiarenia neodmysliteľnou súčasťou intervenčných procedúr. Príčina stúpajúceho výskytu muskuloskeletálnych bolestí medzi intervenčnými rádiológmi je však multifaktoriálna a pravdepodobne je výsledkom kombinácie chronického účinku nosenia ťažkých OOPP, státi na nohách dlhší čas a vynútenej polohy tela. Hoci je možné identifikovať asociácie vzniku muskuloskeletálnych problémov s nosením OOPP, je veľmi ťažké preukázať skutočnú príčinu muskuloskeletálnych bolestí. K zvyšujúcej sa prevalencii týchto problémov prispievajú, okrem pracovného prostredia a OOPP, viaceré rizikové faktory. Biologické, napr. vyšší vek a genetika, no predovšetkým behaviorálne v podobe životného štýlu (neadekvátna alebo nedostatočná pohybová aktivita, nadváha, obezita a pod.). Keďže používanie OOPP patrí k rizikovým faktorom, ktoré nie je možné úplne modifikovať a eliminovať, je nutné v skupine intervenčných rádiológov aplikovať vhodné preventívne opatrenia, ktoré by viedli k minimalizovaniu zdravotných problémov asociovaných s používaním OOPP. Práve behaviorálne faktory sú tie, ktoré v najvyššej miere ovplyvňujú zdravie verejnosti a zároveň sú modifikovateľné. Z toho dôvodu je jednou z odporúčaných a efektívnych intervencií adekvátna fyzická aktivita v podobe vhodne zvolenej zostavy cvikov určených na predchádzanie a minimalizovanie muskulo-

skeletálnych problémov. V príspevku sa zaoberáme vplyvom každodenného používania OOPP na vznik muskuloskeletálnych problémov, ako aj možnosťou minimalizovania rizikových faktorov a podporou budovania správnych behaviorálnych, posturálnych a pohybových návykov.

Kľúčové slová: Ionizujúce žiarenie. Fyzická záťaž. Muskuloskeletálne problémy. Osobné ochranné pomôcky

LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA HEREDITARNEJ SFÉROCYTÓZY - EMA TEST VERSUS PARAMETER MSCV

BARTEK P., BAUMANOVÁ L., ŽELEZNÍKOVÁ T.,
LIPŠIC T.

Hematologické a transfuziologické oddelenie, Onkologický ústav sv. Alžbety s.r.o., Bratislava

Komplex štruktúrálnych proteínov v interakcii s lipidovou dvojvrstvou má zásadný vplyv na mechanickú stabilitu erytrocytu. Medzi geneticky podmienené ochorenia súvisiace s poruchou funkcie proteínov membrány a cytoskeletu červených krviniek patrí aj hereditárna sférocytóza (HS). Diagnostika hereditárnej sférocytózy je založená na klinickom obraze, rodinnej anamnéze, hodnotení parametrov krvného obrazu a retikulocytov, morfológii náteru vzorky periférnej krvi, ako ďalšie skríningové laboratórne testy sú doporučované test osmotickej fragility, kryohemolytický test a EMA test.

Analýza červených krviniek značených eosin-5-maleimidom pomocou prietokovej cytometrie (EMA test) prináša vysokú špecifickosť a citlivosť v rámci diagnostiky HS, pričom potreba iba minimálneho množstva periférnej krvi je pozitívom hlavne pri diagnostike u novorodencov. V prednáške prezentujeme naše výsledky meraní použitím metodiky validovanej autormi Liew a kol. [1] a ich koreláciu s výsledkami meraní parametra MSCV na hematologickom analyzátoze [2].

Kľúčové slová: Červené krvinky. Osmotická fragilita. Prietoková cytometria. Novorodeneček

Literatúra

- [1] LIEW, M.A., NUSSENZVEIG, R., AGARWAL, A., et al. Validation of eosin 5 maleimide staining for the detection of spherocytes in hereditary spherocytosis. *Clinical Cytometry (Cytometry Part B)*. 2012; 82B: 325-342.
- [2] LIAO, L., DENG, Y.F., QIU, Y.L., et al. Values of mean cell volume and meansphered cell volume can differentiate hereditary spherocytosis and thalassemia. *Hematology*. 2014; 19 (7): 393-396.

ESI - VČASNÝ INDIKÁTOR SEPSY

BERNÁTOVÁ J.

Beckman Coulter Slovenská republika s.r.o., Bratislava

Diagnostika sepsy je vzhľadom k rôznorodosti symptómov a pridruženým komorbiditám zložitá a môže viesť k oneskorenej liečbe. Pritom včasná diagnostika a adekvátna terapia sú rozhodujúce pre úspešnú liečbu sepsy a zníženie mortality. Laboratórne biomarkery zápalovej a imunitnej odpovede patria medzi základné piliere diagnostiky sepsy. Jedným z nových laboratórnych varovných príznakov, ktorý zvyšuje index podozrenia na sepsu je ESI (*Early Sepsis Indicator*) – včasný indikátor sepsy. Ide o parameter odvodený od populácie monocytov, ktoré v rámci vrodenej imunitnej odpovede organizmu okamžite reagujú na vstup antigénu, čo sa prejaví ich morfológickou a funkčnou heterogenitou.

Hematologický analyzátor DxH 900 charakterizuje bunky v takmer natívnom stave, čím umožňuje merať aj malé zmeny v morfológii buniek. Okrem kvantifikovania populácie monocytov meria stredný objem monocytov a ich rozptyl – distribučnú šírku monocytov (MDW). Tento rozptyl charakterizuje morfológické zmeny monocytov a dostal názov ESI. Po izolácii populácie monocytov sa histogram s hodnotami objemov monocytov vyhodnocuje v rozšírenom rozsahu v tzv. Extended Volume (EV) range. V rozšírenom rozsahu sú detegované aj tie populácie monocytov, ktorých objemy presahujú rozsah merania pre päťpopulačný diferenciál a vypočítava sa presná štandardná odchýlka, ktorá je mierou anizocytózy monocytov.

Meranie ESI na analyzátore DxH 900 je validované pre dospelých pacientov na urgentných príjmoch ako prídavný test v diagnostike včasných štádií sepsy. V multicentrickej klinickej štúdií ESI vykazoval negatívnu prediktívnu hodnotu (NPV) > 0,93 *.

Crouser ED et al. v publikácii Improved early detection of sepsis in the ED with a novel monocyte distribution width biomarker [1] zmenu distribučnej šírky cirkulujúcich monocytov považuje za významnú prídavnú hodnotu k počtu leukocytov v rámci diagnostiky sepsy na urgentných príjmoch s NPV 97%. V budúcnosti, po validácii vo väčšej prospektívnej štúdií v kombinácii s počtom leukocytov by ESI mohol byť vhodným diagnostickým nástrojom v skorých štádiách sepsy, čo by mohlo viesť k včasnej antimikrobiálnej liečbe.

Kľúčové slová: Sepsa. Monocyty. Biomarkery sepsy. Včasná diagnostika sepsy

Literatúra

[1] CROUSER, E.D., PARRILLO, J.E., SEYMOUR, C., et al. Improved Early Detection of Sepsis in the ED

With a Novel Monocyte Distribution Width Biomarker. *Chest*. 2017; 152 (3): 518-526.

VÝZNAM A MOŽNOSTI STANOVENIA HORMÓNŮV KÓRY A DRENE NADOBĽIČIEK POMOCOU LC-MS/MS

BLAŽÍČEK P.

Slovenská spoločnosť pre laboratórnu medicínu a 4 vive, Bratislava

Presné stanovenie profilu steroidných hormónov na diagnostikovanie endokrinných porúch je dôležité a teraz vďaka pokroku v kvapalinovej chromatografii s tandemovou hmotnostnou spektrometriou (LC-MS/MS) možné.

Endokrinná sústava alebo endokrinný systém je sústava endokrinných žliaz, ktoré produkujú biologicky aktívne látky hormóny, ktoré ovplyvňujú činnosť rôznych orgánov tela a prenášajú informácie vo vnútri tela. Rôznorodá klinická manifestácia závisí od funkčnosti nádoru, čiže závisí od schopnosti produkovať a do okolia uvoľňovať biologicky aktívne látky. Poznáme takmer 100 peptidov, ktoré môžu byť produkované týmito nádormi a môžu účinkovať ako klasické hormóny prostredníctvom krvného obehu, avšak môžu mať aj účinok parakrinný, autokrinný a neurokrinný.

Na súčasné meranie 16 adrenálnych steroidov bola vyvinutá nová metóda založená na LC-MS/MS. Príprava vzoriek je jednoduchá, celý panel trvá 12 minút na spustenie v jednom nástreku meriame: aldosterón, kortikosterón, 11-deoxykortikosterón, progesterón, pregnenolón, kortizón, kortizol, 11-deoxykortizol, 17-hydroxyprogesterón, androstendión, dehydroepiandrosterón, dehydroepiandrosterónsulfát, 21-deoxykortizol, 18-oxokortizol, 18-hydroxykortizol a dihydrotestosteron. Reprodukovateľnosť meraní s variačnými koeficientmi $\leq 10\%$, ako aj analytická senzitivita dostatočná na meranie nízkych hladín, najmä aldosterónu, preukazujú užitočnosť testu na profilovanie nadobličkových steroidov. Nadobličkové venózne merania aldosterónu a kortizolu sú štandardnou praxou v klinickom spracovaní primárneho aldosteronizmu, ale zatiaľ nepoužívajú profil steroidov a preukazujú užitočnosť testu na profilovanie nadobličkových steroidov. Diagnostika je zložitá a takmer vždy sa vyšetrovacie metódy kombinujú. Biochemické možnosti stanovenia rôznych hormónov sú užitočné nielen pri diagnostike, ale aj pri monitorovaní liečby. Dôležité je sledovať aj iné markery, ktoré neboli predtým zvýšené, lebo relaps alebo metastázy môžu produkovať aj iné peptidy. LC-MS/MS rýchlo získala uznanie ako metóda výberu pre presné meranie špecifických steroidov a iných analytov s nízkou molekulovou hmotnosťou používaných pri diagnostike endokrinných porúch. Aplikácie LC-MS/MS

sú teraz čoraz viac používané pre ciele analýzy viacerých analytov. Okrem zlepšenia diagnostiky v porovnaní s existujúcimi imunoanalytickými meraniami stanovenie 16 adrenálnych steroidov, ktoré poskytuje potenciálne užitočnú metódu pre klinickú diagnostiku pacientov (hypoadosterizmus, hyperaldosterizmus, Cushingov syndróm, Conov syndrom...). Súčasné merania 16 plazmatických steroidov v plazme LC-MS/MS stanovuje odlišné profily steroidných metabolitov, ktoré by mohli byť užitočné nielen ako test na Cushingov syndróm, ale metóda má potenciál ponúknuť jedinú skúšku na skrining Cushingov syndróm a počiatočnú klasifikáciu podtypu. Ďalšou výhodou oproti iným skúškam je, že rôzne výbery steroidov na paneli môžu byť použité pre iné poruchy steroidogenézy nadobličiek, vrátane primárneho aldosteronizmu, adrenokortikálnej adrenálnej hyperplázie. Profil steroidov na diagnostikovanie endokrinných porúch s nefunkčnou produkciou steroidných hormónov je teraz možné z pokroku v kvapalinovej chromatografii s tandemovou hmotnostnou spektrometriou (LC-MS/MS). Nadobličkové venózne merania aldosterónu a kortizolu sú štandardnou praxou v klinickom spracovaní primárneho aldosteronizmu, ale zatiaľ nepoužívajú profil steroidov. Test LC-MS/MS okrem zlepšenia v porovnaní s existujúcimi imunoanalytickými meraniami aldosterónu a kortizolu ponúka profilovanie ďalších adrenálnych steroidov, ktoré poskytujú potenciálne užitočnú metódu pre klinickú diagnostiku. LC-MS/MS umožňuje presné stanovenie hormónov drene nadobličiek a sice katecholamínov a ich metabolitov (adrenalin, noradrenalin, dopamin, DHPG, MHPG, metanefrin, normetanefrin, 5-HIOK...). Bez ich presného a špecifického stanovenia by bola sťažná diagnostika feochromocytómu, MEN2A aj MEN2B syndrómov.

Biochemické testy sú potrebné na špecifikáciu tumoru podľa vylučovaného hormónu, alebo jeho metabolického produktu, alebo kontrolu jeho aktivity a liečebného efektu po operácii ako aj doživotný skrining. Tumory v rodinách nemajú jednoznačné klinické varianty, alebo špecifické korelácie s mutáciami v zárodočných bunkách. Polymorfnosť klinických prejavov syndrómu v diagnostike a liečbe vyžaduje multidisciplinárnu spoluprácu skúsených odborníkov, veľké a drahé materiálne vybavenie pracoviska na včasnú diagnostiku a úspešnú liečbu pacientov trpiacich týmto ochorením.

Kľúčové slová: Hormónov kôry a drene nadobličiek. LC-MS/MS

NEBEZPEČIE INTERFERENCIE NUTRIČNÝCH DOPLNKOV PRI ANALÝZACH V BIOCHEMICKOM LABORATÓRIU

BLAŽÍČEK P.

Slovenská spoločnosť pre laboratórnu medicínu a 4 vive, Bratislava

O nebezpečenstve vedľajších účinkov niektorých liekov spôsobených interferenciou sa vie už dlho. Ošetrujúci lekár musí upozorniť pacienta na možné nebezpečie interferencie a aj napriek tomu v roku 2017 zomrelo v USA 72 300 ľudí (*Aug. 27, 2018 HealthDay News*). Ako je to však s nutričnými doplnkami? Diétne doplnky sú populárne, ale sú bez rizika? Podobne ako lieky, doplnky stravy obsahujú zložky, ktoré ovplyvňujú fungovanie organizmu. Niektoré doplnky môžu byť prospešné, ale v iných prípadoch môžu byť rizikové.

Dňa 9.11.2017 FDA vydalo varovanie, lebo okrem zdravotného rizika nadmerného užívania nutričných doplnkov existuje aj závažné riziko interferencie pri samotných biochemických analýzach. Zistilo sa, že vysoké dávky vitamínu B7 (biotínu) výrazne ovplyvňujú analytický výsledok. Zodpovednosťou poskytovateľa zdravotnej starostlivosti je pripraviť pacienta na odber krvi a na transport vzorky krvi do laboratória. Vysoké dávky biotínu v potravinových doplnkoch môžu interferovať so stovkami bežných laboratórnych testov – vrátane niektorých, na ktoré sa lekári na pohotovosti najviac spoliehajú pri diagnostike srdcového infarktu, ale riziko biotínovej interferencie sa rozširuje aj na testy kritické pre vnútorné lekárstvo, ako sú testy na anémiu, zhubné nádory, autoimunitné a infekčné ochorenia a poškodenie srdca. Užívanie suplementov by sa malo starostlivo zvažovať a overovať ich dopad aj na iné procesy v organizme (napr. interakcia s podávanými liekmi). S výnimkou diagnózy vitamínovej deficiencie, nemajú vysoké dávky nutričných doplnkov zdraviu prospešné účinky a môžu byť škodlivé (*Haslam A, Prasad V. Circ Cardiovasc Qual Outcomes. 2018*). Biotín neinterferuje s laboratórnymi testami, ak sa užíva pri hladinách, ktoré sa prirodzene vyskytujú v potravinách a multivitamínoch (Institute of Medicine doporučuje biotín v dávke 30 mg denne), avšak biotínové doplnky sa predávajú v dávkach, ktoré ďaleko prevyšujú toto množstvo od 1 mg do 300 mg. Pacienti si nemusia byť vedomí, že užívajú biotín, pretože nie je vždy označený v doplnkoch, alebo nevedia o tom, že nutričné doplnky musia pred lekárom spomenúť.

Aký vplyv má interferencia biotínu? Komplex biotín-streptavidín je jedným z najsilnejších nekovalentných väzieb vyskytujúcich sa v prírode, asi 1000-krát je väčšia afinita ako afinita interakcie najsilnejšej protilátky-hap-tén, takže je odolný nielen na pH a teplotné extrémny, ale aj na rozpúšťadlá. V dôsledku toho biotín a streptavidín sú používané v rôznych imunologických testoch. Holmes a jeho tím preskúmali 374 testov, ktoré sa používajú v niektorých najobľúbenejších laboratóriách pre testovanie v USA. Zistil, že 221 z nich používa biotín vo svojom teste. Rušenie závisí od konštrukcie testu. Niektoré výsledky sú falošne zvýšené, niektoré boli nesprávne

znížené. Analýza biotínovej interferencie: Falošne znížené výsledky typické použitie: Meranie veľkých molekúl, ako sú hormóny a proteíny. Príklady testov: hormón stimulujúci štítnu žľazu, hypofyzárne glykoproteínové hormóny, ľudský chorionický gonadotropín, paratyroidný hormón, inzulínový rastový faktor-1, inzulín, tyreoglobulín, C-peptid, ferritín, N-koncový natriuretický peptid b-typu, prolaktín, PSA (prostata špecifický antigén) Rušenie závisí od konštrukcie testu. Dva z najbežnejších návrhov imunoanalýzy sú sendvičové testy a kompetitívny test. Existuje tiež riziko, že biotín maskuje skutočnú diagnózu. Napríklad úmrtie hlásené FDA sa vyskytlo, keď pacient, ktorý užíval vysoké hladiny biotínu, mal falošne nízke výsledky troponínu. Biotín je malá molekula, ktorá môže byť pripojená kovalentnou väzbou na rôzne ciele – od veľkých proteínov ako sú protilátky, proti malým steroidným hormónom – s minimálnym účinkom na ich biologickú aktivitu. Biotín potom umožňuje cieľ ľahko zachytiť, pretože tvorí silnú, stabilnú a špecifickú nekovalentnú väzbu s proteínmi avidínu, streptavidínu. Detekčné systémy založené na biotíne sú jadrom imunologických testov na mnohých platformách, samozrejme pokiaľ v laboratóriu nepoužívajú LC-MS/MS. Veľký prebytok biotínu rozpusteného vo vzorke séra bude súťažiť o streptavidín s protilátkou viazaného a teda následok je neúplné alebo žiadne fázy formovania. Nie všetky imunotestovacie systémy sú náchylné na interferenciu s biotínom a niektoré testy založené na biotíne sú tiež navrhnuté s biotínom vopred naviazaným na streptavidín predtým, ako je prítomná vzorka, takže teoreticky nie sú citlivé na interferenciu s biotínom. Vždy sa odporúča konzultovať to s príbalovým letákom výrobcu. Ako dlho trvá biotínu na než sa vyplaví z tela? Neexistuje jednotný čas vymývania biotínu, ktoré by zaručilo výsledky testov bez rušenia. Pacienti by nemali užívať žiaden doplnok stravy, pokiaľ sa s lekárom neporadia a pred odberom krvi sa doporučuje neužívať nutričný doplnok s biotínom aspoň týždeň. Užívanie prílišného množstva vitamínov, minerálov alebo bylinných doplnkov môže spôsobiť nežiaduce, alebo nebezpečné vedľajšie účinky nielen pri biochemických meraniach ale môžu byť nebezpečné aj pre zdravie pacientov.

Dôležitá je diskusia o zmiernení rizika interferencie a je príležitosťou pre laboratória, aby sa ujali vedenia v oblasti vzdelávania lekárov nielen o biotíne, ale aj o iných možnostiach interferencie všeobecne. Vzdelávanie a využívanie informatiky je riešením a treba si uvedomiť že klinici sú oči a uši laboratória a malo by sa pokračovať v príprave súčasných aj budúcich poskytovateľov zdravotnej starostlivosti, aby jedinečné výsledky laboratória podporila aj nasledujúca správna bezchybná interpretácia. Musíme zlepšiť vzdelávanie lekárov o podmienkach, v ktorých sa môžu výsledky laboratória stať nepresnými. Zodpovednosťou poskytovateľa zdravotnej

starostlivosti je správne pripraviť pacienta na odber krvi a včas dopraviť vzorku do laboratória.

Kľúčové slová: Interferencie. Nutričné doplnky. Biotín.

SEPARÁCIA KARBOXYLOVÝCH KYSELÍN METÓDAMI KVAPALINOVEJ CHROMATOGRAFIE

BOHÁČOVÁ I., HALKO R., NAGYOVÁ A., HUTTA M.

Katedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Bratislava

Alifatické a aromatické karboxylové kyseliny sú dôležité zlúčeniny, nakoľko sú prítomné v životnom prostredí a využívajú sa v potravinárstve, poľnohospodárstve a medicíne.

Voľné formy alifatických kyselín sa nachádzajú v rôznom ovocí, napr. kyselina jablčná v jablkách, citrónová v citrusových plodoch. Dôležitú úlohu pri výrobe vína zohrávajú kyselina vínna, mliečna a jablčná, ktoré sa nachádzajú v bobuliach hrozna, prípadne vznikajú počas fermentačného procesu. V potravinárskom priemysle sa ďalej využívajú ako konzervačné látky napr. sodná soľ kyseliny benzoovej sa používa na inhibíciu mikroorganizmov v potravinách. Kyselina glukónová je tiež povolená potravinárska prídavná látka, ktorá sa pridáva buď s kyselinou citrónovou alebo ako jej náhrada na vylepšenie chuťových a antioxidantných / konzervačných vlastností potravín.

Karboxylové kyseliny a ich deriváty sa tiež používajú v medicíne ako antiseptické, antireumatické, anestetické, analgetické, antipyretické a nesteroidné protizápalové liečivá. Taktiež slúžia ako indikátory niektorých ochorení, kedy ich vysoká koncentrácia napríklad v moči naznačuje metabolickú poruchu nazývanú organická acidúria. Organické acidúrie patria medzi dedičné metabolické poruchy. Medzi najznámejšie acidúrie patria propiónová, glutárová, metylénmalónová a pyroglutárová. Sledovanie karboxylových kyselín je tiež dôležité u pacientov s diabetes mellitus (kyselina 3-hydroxybutyrová), ochorením obličiek (kyselina močová), energetickým metabolizmom (kyselina jablčná a citrónová) a mnohými ďalšími ochoreniami.

Separácia karboxylových kyselín predovšetkým polárnych alifatických karboxylových kyselín s krátkym alkylovým reťazcom, je v kvapalinovej chromatografii obtiažna. Nakoľko v kvapalinovej chromatografii v systéme obrátených fáz, sú slabo zadržované a eluujú v mŕtvom objeme kolóny, je potrebné hľadať vhodné alternatívy na ich separáciu. V dnešnej dobe sa do popredia záujmu dostáva hydrofilne interakčná chromatografia (HILIC), ktorej chromatografický systém je ortogonálny

voči kvapalinovej chromatografii v systéme obrátených fáz.

Ďalšou metódou, ktorá sa používa na analýzu polárnych, predovšetkým ionizovateľných látok je iónovo-vylučovacia chromatografia (ICE). Iónovo-vylučovacia chromatografia bola v minulosti využívaná na separáciu anorganických kyselín ako aj alifatických karboxylových kyselín. Problém jej využitia nastáva pri separácii hydrofóbných látok akými sú napríklad aromatické karboxylové kyseliny, nakoľko sú silno zadržané na konvenčne používanej stacionárnej fáze v ICE. Avšak nové prístupy vo vývoji stacionárnych fáz v ICE, vedú k novým možnostiam. Novým prístupom v separácii aromatických karboxylových kyselín sa javí použitie silkagélovej analytickej kolóny so špeciálne modifikovanými reverznofázovými funkčnými skupinami.

Kľúčové slová: Karboxylové kyseliny. Kvapalinová chromatografia

Pod'akovanie

Práca vznikla za finančnej podpory Agentúry na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-17-0318 a zmluvy č. SK-KR-18-0009.

BIOPSIA PRSNÍKA, POSTUP, TECHNICKÉ PARAMETRE, CHYBY A OMYLY

BŔŽIK M.¹, SLOBODNÍKOVÁ J.^{2,3}

¹ Fakultná nemocnica Trenčín, Trenčín

² Fakulta zdravotníctva, Trenčianska univerzita Alexandra Dubčeka v Trenčíne, Trenčín

³ Rádiologická klinika s.r.o., Trenčín

Rakovina prsníka je najčastejším malígnym nádorom u žien, postihuje každú deviatu až desiatu ženu a jej prítomnosť v celosvetovej populácii stále rastie. Odber materiálu pre histopatologické vyšetrenie (biopsia) predstavuje neoddeliteľnú súčasť skríningu karcinómu prsníka. Cieľom prezentácie je zprehľadniť typy biopsií, ktoré sa v súčasnosti používajú v rámci diagnostiky na Slovensku aj vo svete

Prezentujeme základný princíp tenkoihlovej a jadrovej biopsie prsníkových lézií. Techniku vakuovej biopsie. Aspirácie tekutých kolekcii. Postup pri práci so získanými vzorkami. Rozdelenie biopsií je nielen podľa hrúbky a typu použitých ihliel, ale aj podľa techniky, ktorú ku kontrole vpichu používame. K najmodernejším patria odbery pod MR a CT kontrolou, rovnako aj PEM a PET/CT a PET/MR. Vo svete sa používajú aj nové metódy k diagnostike lézií ako aj ich deštrukcii – od RAF techník, Bleus metódy a pod.

Prezentujeme výsledky troch štúdií – závislosť vzoriek na ich hutnosti a hmotnosti a správaní k fixačnému

roztoku, v druhej postupy a výhody aspirácií cystických kolekcii a v tretej význam biopsie pri diferenciálnej diagnostike pooperačných zmien. Zaoberáme sa aj prevenciou chýb pri odberoch materiálu, pri intervenčných výkonoch, čo môže v konečnom výsledku spôsobiť falošnú pozitivitu alebo negativitu.

Definitívna histológia vzoriek a falošná negativita sú ovplyvňované predovšetkým spolupracou pacienta počas odberu materiálu, technológiu odberu a spracovania vzoriek, skúsenosťou lekára vykonávajúceho biopsiu. Ďalej už mimo rádiologického pracoviska – spracovaním vzoriek v laboratóriu, vyhodnotenie vzoriek skúseným patológom, cytopatológom.

Kľúčové slová: Karcinóm prsníka. Biopsia

PANELOVÁ DIAGNOSTIKA V ONKOGENETIKE A JEJ BENEFITY

COPÁKOVÁ L.

GenVias – diagnostické centrum lekárskej genetiky, Bratislava

Súčasná éra testovania prostredníctvom sekvenovania novej generácie so sebou priniesla obrovský posun v onkogenetickej diagnostike. Tento pozitívny skok môžeme definovať časovou úsporou ako aj omnoho väčším rozsahom analyzovaných génov pri jednom behu.

V nedávnej minulosti bol nepísaným štandardom, pri testovaní onkogenetických syndrómov v Slovenskej republike, extrémne dlhý čas samotného vyšetrenia, pri obmedzenom počte testovaných génov. Dedičné syndrómy môžu mať patologickú mutáciu lokalizovanú vo viacerých kandidátnych génoch. Tento fenomén je v praxi sprevádzaný závažným fenotypovým prejavom u nositeľov mutácií. Aktuálne poznatky v oblasti dedičnosti onkologických ochorení akcentujú význam vyšetrenia skupiny vysokorizikových génov a krátky časový interval, za ktorý sa má analýza vykonať.

Pri novodiagnostikovaných karcinómoch prsníka je poznatok o patologickom variante vo vysokorizikovom géne kľúčom k radikálnej operácii a ďalšiemu celoživotnému sledovaniu. Aj z tohto dôvodu je medzinárodne odporúčaný časový interval výsledku z génov BRCA1,2 maximálne 4 týždne. Pri rozsiahlejších analýzach skupiny génov formou panelovej diagnostiky má byť výstup z genetického vyšetrenia k dispozícii v horizonte 2 maximálne 3 mesiacov.

Panelová diagnostika v onkogenetike znamená častejší záchyt patologických a potenciálne patologických variantov kauzálnych génov. Tento fakt vedie k častejším segregáčnym analýzám so záchyтом vysokorizikových jedincov a umožňuje nastavenie celoživotnej dispenzarizácie „šitej na mieru pacienta“.

Kľúčové slová: Panelová diagnostika. Krátky čas genetickej analýzy. Skupina vysokorizikových génov. Gén BRCA1. Gén BRCA2

MOŽNOSTI LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKY CELIAKIE

DOLÁKOVÁ P., GERLAŠINSKÁ E., KUŽMOVÁ A.

Analyticko-diagnostické laboratórium a ambulancia s.r.o., Prešov

Celiakia patrí medzi autoimunitné ochorenia. Choroba je charakterizovaná podstatnou stratou klkov v tenkom čreve a zmenšením absorpčného povrchu. Výsledkom uvedených mechanizmov je porucha rezorpcie všetkých zložiek potravy. Ide o permanentnú neznášanlivosť lepku (gluténu). Glutén je bielkovinový komplex, ktorý sa nachádza v povrchových častiach obilných zŕn. Rozpoznávame niekoľko foriem celiakie: typická (klasická), atypická (subklinická), tichá, latentná a potenciálna.

Podstatou autoimunitných ochorení je vznik imunitnej reakcie, ktorá napáda štruktúry vlastného tela a poškodzuje ich. Hlavným spúšťačom imunitnej reakcie pri celiakii je lepok a to hlavne jeho zložky prolaminíny. Tie sú enzymaticky štiepené v žalúdku, duodene a v tenkom čreve na menšie peptidy. Väzbou týchto peptidov na povrchové glykoproteíny HLA-DQ2 a HLA-DQ8 pozitívnych imunokompetentných buniek sa spúšťa v sliznici tenkého čрева imunitná odpoveď a dochádza ku tvorbe autoprotilátok proti tkanivovej transglutamináze.

Diagnostika celiakie je náročná a môže trvať aj niekoľko rokov. Vychádza z kritérií odporúčených ESPGHAN (Európska pediatriká spoločnosť pre gastroenterológiu, hepatológiu a výživu), ktoré platia aj pre dospelých. Pre potvrdenie diagnózy celiakie sa využíva kombinácia klinického vyšetrenia (anamnéza), výsledky fyzikálneho vyšetrenia, laboratórnych testov, endoskopie a histologického vyšetrenia.

Základným vyšetrením u pacienta je krvný obraz a určenie protrombinového času, z dôvodu možného výskytu anémie, trombocytózy alebo inej koagulačnej poruchy.

Biochemické vyšetrenie môže potvrdiť hypokalémiu, hypomagnezémiu, hypokalcémiu, znížené hladiny proteínov, albumínu a naopak zvýšené hladiny ALT, AST, GMT a ALP. Často je prítomná aj znížená hladina kyseliny listovej a vitamínu B12. Zo sérologických testov sa v prvom rade vyšetrujú protilátky proti tkanivovej transglutaminázy (tTG), protilátky proti endomýziu (EMA), protilátky proti gliadínu (AGA) a protilátky proti deaminovaným gliadínovým peptidom (anti-DGP), ktoré vykazujú vyššiu senzitivitu a špecificitu ako protilátky proti natívnemu gliadínu. Samotná pozitivita sérologických testov však neznamená definitívnu diagnózu

celiakie. Rovnako negatívne výsledky sérologických testov nevylučujú možnosť ochorenia celiakie v neskoršom období veku. Keďže u pacientov s celiakiou je častý deficit IgA, stanovenie hladiny IgA je nevyhnutnosťou. Pri IgA deficiencii sa vyšetrujú protilátky proti transglutamináze triedy IgG. Základným štandardom však pri diagnostike celiakie je histologické vyšetrenie vzoriek.

Genetické testy potvrdia, alebo vylúčia prítomnosť HLA haplotypu DQ2 a DQ8. Indikujú sa hlavne pri diagnostických pochybnostiach. HLA-DQ2 je prítomný u viac ako 90 % pacientov s celiakiou a u ostatných pacientov je prítomný haplotyp HLA-DQ8. Dôkaz HLA haplotypu však nestačí na stanovenie diagnózy celiakie, pretože asi 25 % zdravej európskej populácie vykazuje HLA-DQ2 pozitivitu. Negativita HLA-DQ2/HLA-DQ8 však vylučuje možnosť celiakie s 99% istotou.

Celiakia je závažným celoživotným ochorením, ktoré môže výrazne znižovať kvalitu života pacienta. Včasné stanovenie diagnózy je veľmi dôležité z dôvodu neodkladného zavedenia diétnych opatrení. Jej prevalencia je vysoká: 0,5 až 1 % v Európe a Amerike. Na Slovensku je možné predpokladať prevalenciu 1:250. Celiakia však často uniká pozornosti nielen všeobecným lekárom, ale aj špecialistom, lebo jej stanovenie nie je jednoduché a častokrát sa skrýva za príznakmi iných ochorení. Využitie širokej ponuky laboratórnych testov by mohlo zlepšiť jej diagnostiku a liečbu.

Kľúčové slová: Celiakia. Diagnostika. Transglutamináza. Endomýzium. HLA haplotypy

DVADSAŤPÄŤ ROKOV BETA-TALASÉMII NA SLOVENSKU

FÁBRYOVÁ V.¹, LALUHOVÁ STRIEŽENCOVÁ Z.², KOPČOVÁ J.², OSLANCOVÁ M.², KOLLÁROVÁ A.³, DRÁKULOVÁ M.⁴, KRUTÁ H.⁴, LUPTÁKOVÁ E.⁵, CEIZELOVÁ L.⁵, MACICHOVÁ M.⁶, GBÚROVÁ K.⁶, ŠTEFÁNIKOVÁ Z.⁷, SKRAKOVÁ M.⁷, SAKALOVÁ A.⁷

¹ Katedra hematológie a transfúziológie, Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava

² Oddelenie hematológie a transfúziológie, NÚSCH, Bratislava

³ Ústav laboratórnej medicíny, Fakultná nemocnica Nitra

⁴ Synlab, Bratislava

⁵ Oddelenie hematológie a transfúziológie, Univerzitná nemocnica Bratislava

⁶ Oddelenie hematológie a transfúziológie, Fakultná nemocnica L. Pasteura Košice

⁷ KHaTK, Univerzitná nemocnica Bratislava Petržalka

Pred 25 rokmi bola pri HTS SLS vytvorená študijná skupina za účelom vyhľadávania beta-talasémii a iných hemoglobínopatií na Slovensku. Centrami štúdie sa stali: OHT UN BA Kramáre, OHT NÚDCH v Bratislave a OHT FN L. Pasteura v Košiciach. Kritéria pre pacientov na zaradenie do štúdie boli: mikrocytóza erytrocytov v krvnom obraze (MCV menej ako 78 fl, MCH menej ako 25 pg), terčové bunky príp. iné anomálie v periférnom krvnom nátere, normálne alebo zvýšené hodnoty parametrov Fe, prejavy hemolýzy, významné boli údaje z rodinnej anamnézy a objektívneho vyšetrenia. U pacientov v súbore sa vykonalo ELFO hemoglobínu a genetické vyšetrenie mutácií beta-talasémii (metóda reverznej hybridizácie). Neskôr sa vyšetrovali aj mutácie hereditárnej hemochromatózy, u niektorých pacientov aj obsah Fe v suchom tkanive pečene MR metódou.

Podозrenie na beta-talasémiu alebo inú hemoglobínopatiu sa vyslovilo u 618 pacientov, z toho bolo 41 cudzincov alebo ich potomkov. Kompletná diagnostika včít. genetiky sa vykonala u 313 (48,86 %) pacientov. Z toho u 300 (48,39 %) sa zistili mutácie beta-talasémie, u 3 pacientov (0,45 %) hemoglobín S a u 22 pacientov (3,54 %) sa dostupnými metódami nedokázala hemoglobínopatia.

Celkovo v našom súbore sa zistilo 15 mutácií beta-talasémie, väčšinou stredomorského typu. Z nich najčastejšie boli IVS 1.110 (G-A) 30,7 %, , IVS 2.1 (G-A) 20,7 % a IVS 1.6 (T-C) 11,7 %. Vo všetkých prípadoch sa jednalo o heterozygotov. Klinicky boli pacienti v celkovo dobrom stave. Hodnoty hemoglobínu sa pohybovali na úrovni ľahkej – stredne ťažkej anémie. Niektorí vykazovali ľahké prejavy hemolýzy. Terapeuticky sme podávali kyselinu listovú a vitamín B12 v injekčnej forme. U žien s metrorágiami sme na prechodnú dobu podávali aj malé dávky Fe per os. V starostlivosti sme mali 7 gravidných pacientiek s beta-talasémiou (u jednej išlo o opakovanú graviditu), u žiadnej z nich sme až do pôrodu nepodali transfúzie erytrocytov. Všetci pacienti a ich rodiny boli informovaní o povahe svojho ochorenia.

Pozitívom štúdie je tiež, že sa rozšírila diagnostika nielen beta-talasémii v SR, ale aj diagnostika alfa-talasémii a iných hemoglobínopatií.

Kľúčové slová: Anémie. Hemoglobín. Beta-talasémia. Hereditárna hemochromatóza

POSTAVENIE NELEKÁRSKYCH POVOLANÍ V SYSTÉME PZS V OBLASTI LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKY

FARKAŠ M., HVOZDOVIČOVÁ B.

Slovenská komora iných zdravotníckych pracovníkov

Prezentácia sa zaoberá históriou laboratórnej diagnostiky na Slovensku. Práca v zdravotníctve je prácou tímovou a potrebuje vodcov i pešiakov použiť vojenskú terminológiu. Hľadáme cesty, ktoré nás povedú ďalej a vyššie v prospech pacienta, ale i nášho postavenia v rezorte zdravotníctva v širšom, ale aj užšom kontexte. Kvalitné vzdelávanie je najsilnejšou zbraňou, ktorú má dnešné zdravotníctvo pre jeho zmenu v konaní dobra v prospech pacienta v duchu „*Salus aegroti suprema lex*“. Našou úlohou je aktívne vystupovať i vstupovať do rozhodnutí i rozhodovaní, ktoré oslabujú či posilňujú naše postavenie v rezorte zdravotníctva cez spektrum povolání, ktoré nám ukladá či umožňuje zákon o komorách i SLS cez odborné spoločnosti.

Kľúčové slová: Laboratórna diagnostika. Zdravotnícke povolania. História. Súčasnosc'. Vízia

OBSAH MÄSA V MÄSOVÝCH VÝROBKOCH

FRAŇO Ľ.

ALS SK, s.r.o., VšN Rimavská Sobota

Plak obchodných reťazcov na výrobcov je čoraz väčší a ich hlavnými požiadavkami je dodávať potraviny čo najlacnejšie, žiaľ v mnohých prípadoch na úkor kvality. Výnimkou nie sú ani mäsové výrobky. Výrobky, ktoré sa dostávajú na trh sú síce zdravotne nezávadné, spĺňajú hygienické požiadavky, ale ako je to s ich kvalitou? Našťastie si čím ďalej viac a viac spotrebiteľov pri nákupe všima a porovnáva aj kvalitatívne znaky. Lebo jediné informácie o ktoré sa spotrebiteľ pri výbere potravín môže oprieť, sú vzhľad potraviny a informácie deklarované na etikete. Sú ale tieto informácie vždy pravdivé?

Kľúčové slová: Obsah mäsa. Falšovanie potravín. Neistota merania

POROVNANIE HLADINY ALKOHOLU V KRVI A DYCHU

FRAŇO Ľ.

ALS SK, s.r.o., VšN Rimavská Sobota

Zisťovanie alkoholu v dychu sa používa v našej krajine od roku 1950, ale meracie techniky zaznamenali značné zlepšenie len v posledných desaťročiach. Táto štúdia zisťuje konverzný faktor medzi etanolom nameraným v krvi vyjadreným v SI jednotkách g/l a promile. Druhá časť experimentu zisťuje prepočítavací koeficient medzi etanolom v krvi a etanolom v dychu a zisťuje rozdiel medzi výsledkami alkohol testera Dräger Alcotest

7410 používaným PZ SR a biochemickým analyzátorom ROCHE Cobas® 6000.

Kľúčové slová: Etanol. Promile. Alcotest. Cobas® 6000

KONTAMINÁCIA VZORIEK KRVI Z ODBEROVÝCH SYSTÉMOV

FUKNOVÁ M.

Oddelenie chémie a toxikológie, Odbor prírodovedného skúmania a kriminalistických analýz, Kriminalistický a expertízny ústav PZ, Bratislava

Medzi zneužívané látky s ľahkou dostupnosťou a nízkou cenou patria organické rozpúšťadlá tzv. solvenciá, ktoré sa nachádzajú v rôznych riedidlách, farbách, lepidlách a podobne.

Drogy solvenciového typu sa do organizmu dostávajú prevažne inhaláciou pár, ktorá vedie k pozvoľnému nástupu eufórie. Nižší stupeň intoxikácie sa dá prirovnať k stavu miernej opitosti. Jedným z najčastejšie zneužívaným organickým rozpúšťadlom je toluén, ktorého prítomnosť v organizme sa vykonáva analýzou plnej krvi intoxikovaného. Pri analýze prchavých látok a hlavne toluénu je dôležité zabezpečiť, aby vzorka plnej krvi bola odobratá do vhodného odberového systému – skúmavky.

Kľúčové slová: Toluén. Skúmavka

EXTRACTION AND ANALYSIS OF SELENIUM FOR SELENIUM-FORTIFIED SPIRULINA USING AE HPLC-ICP/MS

GEUM D., JI Y., PAK Y.

Department of Chemistry Education, Korea National University of Education, Korea

The purpose of this research is to analyse selenium species in selenium-fortified spirulinas. Different species of Se show different chemical behaviours and more importantly, bio-activity. Thus, it is not enough to know the total concentration but quantitative information for each Se species must be obtained to understand the role of Se in our body. The most effective technique for speciation study is the combination of HPLC (high performance liquid chromatography) with ICP/MS (Inductively coupled plasma/mass spectrometry).

Extraction of Se species performed for distilled water and different concentration of EtOH to get the best performance. Other conditions such as the addition of SDS (sodium dodecyl sulphate) and ultrasonication were tested for the better extraction efficiency. Enzyme was

used to digest Spirulina. Anion Exchange HPLC has shown a good separation ability for organic and inorganic Se species. SeMet, SeCys, SeMeCys as well as inorganic Se⁴⁺ and Se⁶⁺ are separated with each other. The best separation condition for those species was found for the AE column (Hamilton PRP-X100, 4.6 x 250 mm PEEK). The mobile phase of 0.10 M ammonium acetate (at pH 5.2) was used as an eluent and switched to 0.20 M AC after 4.2 min. with the flow rate of 1.0 mL/min.

Separation of Se species with PRP-X100 AE HPLC and detection with ICP/MS was successful. Though Spirulina was grown in Selenate, Se detected were in different chemical forms. Examination of supernatant show different distribution of Se species from residue. Organic species were more distributed in residue than the solution above, where inorganic Se was more rich. Organic Se was about 20 % of total Se detected in Spirulina. Also, Enzymatic digestion was more effective in extraction and detection of Selenoamino acids. SeCys and SeMet were detected mostly from residue of Spirulina extraction.

Key words: Speciation. Selenium. ICP/MS, HPLC, Analysis

VÝSKYT A STANOVENIE PLATINY A JEJ ZLÚČENÍN V MESTSKOM ŽIVOTNOM PROSTREDÍ

HALKO R.¹, PROCHÁZKOVÁ S.¹,
KRIEGEROVÁ K.¹, TUČEK J.¹, PAK Y.-N.²

¹ *Katedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovenská republika*

² *Department of Chemistry Education, Korea National University of Education, Korea*

V súčasnosti problém znečistenia mestských aglomerácií mikropolutantami je vysoko aktuálny. Za hlavné zdroje tohto znečistenia môžeme považovať mestské odpadové vody, urbánne pôdy, riečne sedimenty, čistiarenské kaly a tuhé splašky. V prípade kontaminácie mestského prostredia platinou (Pt) poznáme dva hlavné zdroje znečistenia a to: 1. vplyvom používania Pt cytostatík v súvislosti s liečbou nádorových ochorení chemoterapiou a 2. používaním moderných automobilových katalyzátorov obsahujúcich prvky platinovej skupiny (PGE).

V chemoterapeutickej praxi Pt cytostatiká, napr. cisplatina, oxalíplatina a karboplatina, patria medzi najpoužívanejšie cytostatiká. Všetky cytostatiká vrátane Pt cytostatík majú celú škálu nežiaducich účinkov a sú vlastne vysokotoxické látky. Vzhľadom na to, že cytostatiká, či už v podanej alebo metabolizovanej forme, sa vylučujú z ľudského organizmu, vedú ku systematickej kontaminácii životného prostredia. Priemerná denná

dávka pre dospelého onkologického pacienta predstavuje 100-500 mg Pt cytostatika, čo predstavuje 65-325 mg Pt. Priemerné dávkovanie Pt cytostatika je jedna dávka každé 4 týždne. Z tejto dávky sa vylúči približne 50 % močom. Prakticky to znamená možnosť nežiaduceho mutagénneho ovplyvnenia všetkých organizmov žijúcich napr. v kanalizáciách napojených na nemocnice liečiacich onkologických pacientov. Takéto sekundárne zmeny môžu znamenať ďalšie riziká ohrozenia zdravia človeka.

V prípade používania automobilových katalyzátorov sa zistilo, že katalytická vrstva obsahujúca PGE v katalyzátore sa po určitom čase rozruší a PGE spolu so spalinami unikajú do životného prostredia. V jednom automobilovom katalyzátore, v závislosti od typu auta, sa nachádza 0,9-2,3 g platiny a po najazdení 100 000 km sa z katalyzátora uvoľní až okolo 40 % Pt. Keď zoberieme do úvahy stále rastúce množstvo áut jazdiacich v mestských aglomeráciách rapídne sa zvyšuje aj koncentrácia PGE v ovzduší, čo ma za následok aj ich zvýšenú akumuláciu v urbánnych pôdach.

Z uvedených dvoch dôvodov je potrebné systematické štúdiom výskytu platinových zlúčenín nie len v odpadových vodách a ovzduší, ale aj v tuhých vzorkách životného prostredia, ako sú urbánne pôdy, riečne sedimenty, čistiarenské kaly a tuhé splašky.

Kľúčové slová: Platina. Stanovenie. Výskyt. Mesto. Životné prostredie. Analýza

Podakovanie

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. SK-KR-18-0009.

AKÉ SÚ MOŽNOSTI UPLATŇOVANIA PREVENČIE V AUTOMOBILOVOM PRIEMYSE U OCHORENÍ Z DNJZ KONČATÍN

HRUŠKOVÁ M.¹, BUCHANCOVÁ J.², KULINA P.¹,
STRÝČKOVÁ M.¹, OSINA O.³, MAREJKOVÁ E.⁴,
ZELNÍK Š.¹

¹ ŽILPO s.r.o., Žilina

² Ústav verejného zdravotníctva, JLF Martin, Univerzita Komenského Bratislava

³ Klinika pracovného lekárstva a toxikológie, UNM a JLF Martin, Univerzita Komenského Bratislava

⁴ Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Žiline, Žilina

Úvod: Automobilizmus je priemyselným odvetvím, ktoré sa zaoberá vývojom, výrobou, marketingom a predajom motorových vozidiel a pod ktoré patria všetky automobilky a ich subdodávatelia. Slovenská republika je jedným z vedúcich výrobcov automobilov v strednej Európe s prítomnosťou štyroch svetových

výrobcov Volkswagen, PSA Peugeot Citroën, Kia Motors Slovakia a Jaguar Land Rover. V regióne Žilinského kraja si automobilový priemysel pri zabezpečovaní zdravotného dohľadu pracovnou zdravotnou službou (PZS) vyžaduje multifaktorové hodnotenie pracovných podmienok. Jednou z najčastejšie hodnotených a dominantných profesií z hľadiska zdravotných rizík faktorov práce a pracovného prostredia je „operátor“. Cieľom práce bolo posúdiť možnosti efektivity vykonávaných preventívnych opatrení z hľadiska fyzickej záťaže vo vzťahu k výskytu profesionálnych ochorení z dlhodobého nadmerného jednostranného zaťaženia končatín.

Materiál a metódy: Autori hodnotili pracoviská montážnych liniek, na ktorých sa vykonáva montáž komponentov pre automobilový priemysel. Ide o manuálnu montážnu pásovú prácu vykonávanú vo vnútenom pracovnom tempe hornými končatinami, na niektorých pracovných pozíciách bez využitia náradia, na niektorých pozíciách s využitím nitovačky a pneumatickej utáhovačky, ktorá je aj zdrojom vibrácií. Práca je prevažne dynamického charakteru, je zaradená do 3. kategórie s faktorom fyzická záťaž a spĺňa kritérium nadmernosti. Na základe posúdenia rizika boli odporúčané viaceré preventívne opatrenia, ktoré by mohli zmierniť lokálnu svalovú záťaž (LSZ). Kvalitný výkon lekárske preventívnych prehliadok (LPP) pred zaradením na prácu a v pravidelných intervaloch bol v súlade s Odborným usmernením MZ SR o náplni LPP vo vzťahu k práci číslo: S06881-OZS-2016.

Výsledky: Po kontinuálnom mapovaní a odhaľovaní zdravotných rizík od r. 2008 bola zo strany PZS zamestnávateľovi vypracovaná a priebežne aktualizovaná identifikácia faktorov práce a pracovných podmienok a kategorizácia prác. Zároveň bol priebežne upresňovaný aj obsah LPP pre jednotlivé profesie. Aj napriek tomu boli hlásené v máji 2018 choroby z povolania u dvoch zamestnankýň v profesii operátorka s dg Choroba z DNJZ horných končatín (sy *canalis carpi*).

Záver: Preventívne opatrenia odporúčané PZS, ktoré boli cielene zamerané na znižovanie záťaže svalstva horných končatín a na zníženie počtu pohybov, zamestnávateľ ústretovo prijal a včas realizoval. Napriek zavedeným opatreniam môžu byť príčinou tejto situácie trvalé požiadavky na intenzifikáciu práce, čo sa nedá ovplyvniť ani samotnou kvalitnou zdravotnou prevenciou.

Kľúčové slová: Preventívne opatrenia. DNJZ končatín. Automobilizmus

SÚČASNÝ STAV A MOŽNOSTI VYUŽITIA PREPARATÍVNEJ HPLC BIOLOGICKÝCH VZORIEK

HUTTA M., BOŽEK P., GÓRA R., BOHÁČOVÁ I.,
HALKO R.

Katedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta UK, Bratislava

Je všeobecne známe, že kvalita a spoľahlivosť údajov vyprodukovaných počas vykonávania klinických skúšok je veľmi dôležitým aspektom vývoja farmaceutických výrobkov. Získané data preto musia spĺňať všetky regulačné a legislatívne požiadavky stanovené na medzinárodnej úrovni. Cieľom je chrániť zdravie pacientov vystavených týmto novým liekom. Analytické techniky predstavujú veľmi dôležitý aspekt pri tvorbe údajov vyžadovaných protokolmi ako relevantná podpora klinického výskumu [1]. V tejto súvislosti je chemická analýza vykonávaná vo výskumných a kontrolných laboratóriách v súlade s platnými právnymi predpismi a usmerneniami. Uvedená skutočnosť predstavuje naozajstnú výzvu pri vykonávaní klinických skúšok - hlavne z pohľadu vývoja a overovania stále nových vhodných analytických techník [1]. Z uvedených pohľadov je prekvapujúce relatívne zanedbávanie súčasných možností pokročilých izolovaných a preparatívnych techník, z pohľadu zamerania prednášky najmä vysokoúčinnnej preparatívnej kvapalínovej chromatografie kombinovanej s tandemovou multidekciou. Prednáška tiež poukáže nielen na pokrok, ktorý sa dosiahol pri vývoji nových prístrojov, ale aj na súčasné možnosti relatívne dostupnej digitalizácie dát zo starších prístrojov, ktorá umožňuje získavanie relevantných údajov už aj vo fáze preparatívnych prác. Preparatívna chromatografia s jedným detektorom (UV, VIS, RI) je častokrát považovaná za nevyhnutný nástroj syntetickej chémie pri čistení látok (medziproduktov, produktov) alebo biovied na izoláciu a purifikáciu (bio)chemických individuí pred ich charakterizáciou, identifikáciou a stanovením. Systematické kombinovanie súčasných možností laboratórnej preparatívnej chromatografie s tandemovou (sériovo-paralelnou) detekciou [2] napomôže pri objasnení nevyriešených problémov, ktoré si zaslúžia ďalšie skúmanie. Prednáška sa zameria tiež na hodnotu takejto investície a zlepšenie ekonomiky laboratórnej práce (systematické využívanie vybraných separačných módov pri preferovaní princípov zelenej analytickej chémie [3]) vo výskumných aj rutinných laboratóriách. Ako príklad budú uvedené praktické možnosti kombinovania veľkoobjemového dávkovania (LVI) v preparatívnej HPLC (kolóna 2,1 x 33 cm) s UV(preparatívnej)-kondukto-metricou-fluorescenčnou a inou detekciou, zberom 50 frakcií (40minút) z 25 až 120 mililitrov okamžite po odbere injektovaných vzoriek natívneho moču (sušina 10 gram / 100 mililitrov) zle kompenzovaného diabetika. Ďalšími diskutovanými výzvami bude izolácia foriem stopových prvkov z výživy a moču. Budúcou výzvou je aj použiteľnosť plazmových techník (ICP-MS, ICP-AES) na monitorovanie frakcií z preparatívnej HPLC pracujúcej s technikami LVI a prepínania preparatívnych kolón (PCSW); systematické využitie možností off-line techník atómovej spektrometrie na organokovové špecifikácie

látok klinického významu; a tiež off-line kombinácie DI a FIA-MS techník s preparatívnou HPLC.

Kľúčové slová: Preparatívna HPLC. Dávkovanie veľkých objemov. Zelená analytická chémia

Pod'akovanie

Za podporu projektom APVV-17-0318, APVV-0259-12, VEGA 1/0899/16, VEGA 1/0787/18, SK-KR-18-0013, EU ITMS 26240120025.

Literatúra

- [1] CAROLI, S., ZÁRAY, G. (Eds.) *Analytical Techniques for Clinical Chemistry, Methods and Applications*. John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, NJ, USA 2012.
- [2] KAPSDORFEROVÁ, D. *Preparatívna HPLC prírodných látok – pokročilé techniky*. Magisterská práca, (ved. DP M. Hutta, konz. R. Góra), PriF UK Bratislava, 2016/2017.
- [3] DE LA GUARDIA, M., ARMENTA, S. *Green Analytical Chemistry. Theory and Practice*. 2010; 57: 1st Ed. Elsevier, Amsterdam.
- [4] KOEL, M., KALJURAND, M. *Green Analytical Chemistry*. RSC Publishing, London, 2010.

STRATÉGIA ROZVOJA NTS SR

CHOVANCOVÁ N., DUNDOVÁ R., KALUŽAY A.

NTS SR, Bratislava

Národná transfúzna služba (NTS SR) je štátna príspevková organizácia zriadená zriaďovacou listinou MZ SR č. j. 037754/2003 zo dňa 2.12.2003.

Pre zrealizovanie plánovanej centralizácie transfúznej služby požiadala NTS SR o pridelenie financií z Európskeho fondu regionálneho rozvoja projektom: Dobudovanie infraštruktúry NTS, ktoré čerpala vo výške: 7 256 034,43 Eur. Časová realizácia projektu bola august 2009 – marec 2013. Súčasný stav: 3 spracovateľské centrá (SC) a 12 odberových centier (OC). Pracoviská NTS SR vykonávajú okolo 160 000 odberov ročne a produkujú 72 % transfúzných liekov (TL) použitých v Slovenskej republike, evidujú 81 % darcov krvi.

NTS SR od svojho vzniku intenzívne pracovala na budovaní komplexného systému odberov krvi a jej spracovania na TL s cieľom zvyšovania ich kvality a bezpečnosti. Implementovaním najnovších technológií – odberové vaky poslednej generácie, odberové váhy s akustickou i vizuálnou signalizáciou, veľkoobjemové centrifúgy, lisy s automatickou separáciou zložiek krvi, sterilné zväračky, šokové zmrazovače plazmy, chladiace mraziace zariadenia, atď. – dosiahla automatizácia a štandardizácia spracovania krvi v NTS SR

porovnateľnú úroveň s inými špičkovými pracoviskami v zahraničí. Automatizované spracovanie celej krvi uzavretým systémom minimalizuje možnosť kontaminácie TL pri ich výrobe a možnosť chýb spôsobených ľudským faktorom. Rozšírili a skvalitnili sa aj prístrojové metódy odberu krvných komponentov aferézou (Er, Tr, plazma). Automatizácia sa zaviedla aj v rámci imunohematologických vyšetrení súvisiacich s produkciou TL ako aj pri vyšetreniach v záujme prevencie prenosu infekčných ochorení TL. Všetky tieto opatrenia smerujú k maximálnemu zníženiu možnosti prenosu infekčného agens krvou darcu na príjemcu transfúzneho lieku a k zníženiu nežiaducich reakcií a udalostí.

Pokrok v spracovaní celej krvi na jednotlivé komponenty a najmä vysoké percento deleukotizácie transfúzných liekov (100 % u TL s obsahom trombocytov, 80 % u TL s obsahom erytrocytov) priniesli aj zníženie výskytu nežiaducich transfúzných reakcií na cca 0,124 %.

Plány a vízie NTS SR súvisiace s ďalším zvyšovaním bezpečnosti transfúzných liekov na základe odporúčania Rady Európy a Direktív Európskej komisie so zabezpečením dostatku darcov krvi : Zavedenie testovania nukleových kyselín – NAT (Nucleic Acid Testing); Zavedenie patogennej inaktivácie transfúzných liekov; Zavedenie produktívnych plazmaferéz; Zlepšenie prostredia pre darcov krvi.

Kľúčové slová: Implementácia najnovších technológií. Automatizácia. Zvyšovanie bezpečnosti transfúzných liekov

DROGY V DOPRAVE

JANKOVIČOVÁ K.

Oddelenie chémie a toxikológie, Odbor prírodovedného skúmania a kriminalistických analýz, Kriminalistický a expertízny ústav PZ, Bratislava

Konopa a metamfetamín sú okrem alkoholu dve najčastejšie zneužívané psychoaktívne látky na slovenskej drogovej scéne. V roku 2017 bolo na Kriminalistický a expertízny ústav PZ (KEÚ PZ) predložených 2106 záchytovej drog, z toho 53 % záchytovej predstavovala sušená konopa a 30 % záchytovej predstavoval metamfetamín. Obe majú vysokú prevalenciu a obe majú vplyv na vedenie motorového vozidla, nakoľko zhoršujú celý rad funkcií u konopy je markantné predĺženie reakčnej doby, u metamfetamínu vystupňovaná agresivita). Podľa súdneho dvoru Európskej únie sa osoba, ktorá pravidelne užíva konopu, považuje za nespôsobilú viesť motorové vozidlo, zatiaľ čo osoba, ktorá užíva konopu príležitostne, sa považuje za spôsobilú, avšak to iba sa predpokladu, že užívanie oddeľuje od vedenia motorového vozidla.

Na Slovensku zatiaľ nemáme k dispozícii štatistické prehľady o vodičoch motorových vozidiel, ktorí požili pred jazdou drogu. V oficiálnych štatistikách Policajného zboru sa uvádza iba počet dopravných nehodách spôsobených vodičom (vinníkom) s pozitívnou dychovou skúškou na etanol, resp. s pozitívnym testom na návykovú látku, bližšie nešpecifikovanú. Policajný zbor SR nedisponuje v súčasnosti žiadnym technickým prostriedkom na zisťovanie prítomnosti drog v slinách vodičov.

Táto prezentácia ponúka výsledky toxikologických vyšetrení biologických materiálov odobratých vodičom podozrivých z jazdy pod vplyvom návykovej látky. Ide o prvý „pilotný“ projekt KEÚ PZ v spolupráci s vybranými útvarmi Policajného zboru SR.

Kľúčové slová: Doprava. Drogy v krvi

IDENTIFIKÁCIA OMAMNÝCH A PSYCHOTROPNÝCH LÁTOK V BIOLOGICKÝCH MATERIÁLOCH V PODMIENKACH KEÚ PZ

JANKOVIČOVÁ K.

Oddelenie chémie a toxikológie, Odbor prírodovedného skúmania a kriminalistických analýz, Kriminalistický a expertízny ústav PZ, Bratislava

Kriminalistický a expertízny ústav PZ (KEÚ PZ) ako jediné oprávnené pracovisko v SR, ktoré sa zaoberá okrem iného analýzou omamných a psychotropných látok zaistených na drogovej scéne SR a ich dokazovaním v biologických materiáloch, má jeden z najucelenejších prehľadov o množstvách a druhoch jednotlivých zaistených drog. Spektrum zneužívaných psychoaktívnych látok na Slovensku sa výrazne zmenilo za posledné desaťročie. Na drogovej scéne sa objavili úplne nové semisynetické a syntetické zlúčeniny a aj niekoľko liečiv dlhodobu terapeuticky používaných (buprenorfín, ketamín, fentanyl). Zaznamenaný bol pokles v zneužívaní opiátov so súčasným vzostupom konzumácie syntetických drog predovšetkým zo skupiny syntetických kanabinoïdov a syntetických katinónov. Toxikologické laboratórium oddelenia chémie a toxikológie KEÚ PZ Bratislava vykonáva vyšetrenia biologických materiálov osôb podozrivých z užívania drog, resp. osôb akútne intoxikovaných v súvislosti s objasňovaním násilných trestných činov ako je vražda, lúpež, úmyselné ublíženie na zdraví, nebezpečné vyhrážanie, znásilnenie a pod. Skríningové vyšetrenie krvi, resp. moču vždy poskytuje iba predbežný analytický výsledok, ktorý je nepostačujúci na trestnoprávne účely. Každý pozitívny výsledok orientačného skríningového vyšetrenia musí byť potvrdený druhou nezávislou inštrumentálnou metódou, napr. chromatografiou v kombinácii s hmotnostnou spektrometriou.

Kľúčové slová: Omamné a psychotropné látky. Biologický materiál. Toxikológia

MOŽNOSTI MOLEKULÁRNO-GENETICKÝCH ANALÝZ U PACIENTOV A PERSONÁLU PRI LEKÁRSKÝCH EXPOZÍCIÁCH

JURÍČEKOVÁ M.¹, HORVÁTHOVÁ M.¹,
JÁNOŠÍKOVÁ L.², NIKODÉMOVÁ D.³,
KLEPANEC A.², ŠALÁT D.²

¹ Katedra laboratórnych vyšetrovacích metód v zdravotníctve, Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnavská univerzita v Trnave, Trnava

² Inštitút fyzioterapie, balneológie a liečebnej rehabilitácie v Piešťanoch, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave, Piešťany

³ Slovenská zdravotníctva univerzita, Bratislava

Ionizujúce žiarenie je známy ľudský karcinogén, ktorý môže vyvolať celý rad biologických účinkov v závislosti od fyzickej povahy, trvania a času expozície. Vyšetrenie účinkov a náchylnosti po expozícii ionizujúceho žiarenia pri vyšších dávkach umožňujú molekulárno-genetické analýzy, pomocou ktorých je možné sledovať zmeny v normálnej chromozomálnej štruktúre alebo počte chromozómov. Chromozómové aberácie (CA) sa môžu vyskytnúť spontánne alebo v dôsledku chemoterapie či rádioterapie. Cytogenetická analýza periferných lymfocytov (CAPL) je metóda, ktorá umožňuje kvalitatívnu a kvantitatívnu analýzu chromozómových abnormalít (štrukturálnych a numerických aberácií) v ľudských somatických bunkách in vitro pomocou optického mikroskopu. Na lymfocyty sa pôsobí mitotickým jedom, napr. kolcemidom aby došlo ku kumulácii deliacich sa buniek. Spracované bunky sú pripravené na mikroskopické preparáty, ktoré sú nafarbené vhodným farbivom. Analýza chromozómov v ľudských periferných krvných lymfocytoch (PBL) pomocou farbenia Giemsa je najpoužívanejšia metóda ako biomarker expozície a častého biologického účinku mutagénnych či karcinogénnych látok. Táto metóda nie je však dostatočne rýchla a presná, čo naopak umožňuje použitie fluorescenčnej in situ hybridizácie (FISH) s použitím nukleovej peptidovej teloméry a centromérneho peptidu (PNA). Fluorescenčná in situ hybridizácia (FISH) detekuje najmä stabilné translokácie. Služi k analýze chromozómových odchýlok v mitózach, ale aj v nedeliacich sa interfáznych jadrách s použitím DNA sond špecifických pre chromozómové štruktúry (centroméry, teloméry, satelitné DNA), sond pre jedinečné génové kópie (lokus-špecifické sondy) a tzv. malovacích sond pre celé chromozómy. V niekoľkých štúdiách sa uvádza, že FISH analýza PBL je presnejšia ako konvenčná cytogenetická analýza Giemsa a to najmä vo vzorkách ožiarených vysokými dávkami ionizujúceho

žiarenia. Tieto výsledky ukazujú, že analýza FISH s použitím centromérovej/telomérovej sondy sa môže stať štandardnou metódou pri hodnotení biologických účinkov ionizujúceho žiarenia. Kombinácia cytogenetiky s molekulárnou biológiou poskytuje zvýšenú citlivosť a schopnosť hodnotenia vzniku rizika z ožiarenia.

Kľúčové slová: Chromozómové aberácie. Cytogenetika. FISH. Ionizujúce žiarenie

NAZÁLNE NOSIČSTVO METICILÍN REZISTENTNÝCH KMEŇOV *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* V SKUPINE ZUBNÝCH LEKÁROV A PRACOVNÍKOV STOMATOLOGICKÝCH AMBULANCIÍ

KAIGLOVÁ A.¹, GÉCIOVÁ E.², ŠPAJDELOVÁ J.¹

¹ Katedra laboratórnych vyšetrovacích metód v zdravotníctve, Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnavská univerzita v Trnave, Trnava

² Ústav zdravotníckych disciplín, Vysoká škola zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety, Bratislava

Staphylococcus aureus je významným oportunistickým patogénom s veľmi variabilným genomom, takže je zodpovedný za široké spektrum ochorení. Významným miestom výskytu tohto patogénu u zdravých jedincov, vrátane kmeňov rezistentných voči meticilínu je koža, hltan, ústna dutina, sliznica nosa a pod. Závažné infekcie môžu spôsobiť predovšetkým tzv. meticilín rezistentné kmene *Staphylococcus aureus* (MRSA), pre liečbu ktorých možno použiť len obmedzený výber antibiotík. Pretože na základe dostupných štúdií by mohli byť zubní lekári a zamestnanci stomatologických ambulancií vystavení zvýšenému riziku šírenia kmeňov MRSA, porovnali sme skupinu stomatologických pracovníkov - lekárov, sestier a dentálnych hygieničiek s kontrolnou skupinou študentov Trnavskej univerzity v Trnave. Po odobratí výteru z nosovej sliznice pomocou odberovej súpravy Amies s agarovým gélovým transportným médiom sme vzorky spracovávali pomocou štandardných metód určených pre identifikáciu a izoláciu *S. aureus*, s následným potvrdením druhu metódou polymerázovej reťazovej reakcie (PCR), kde sme sa zamerali na zistenie prítomnosti špecifického fragmentu *nuc* génu, o veľkosti približne 279 bp, ktorý je charakteristickým pre tento druh mikroorganizmu. Pre detekciu meticilín rezistentných kmeňov zlatého stafylokoka sme uskutočnili diskový difúzný test s cefoxitínom (30 µg). Na rutinnú kontrolu kvality stanovenia citlivosti baktérie *S. aureus* na cefoxitín sme použili odporúčané kontrolné kmene ATCC 29213 (MSSA) a ATCC 33591 (MRSA). *S. aureus* bol pozitívny u 23 (31,94 %) stomatologických pracovníkov z celkového počtu 72 vyšetovaných vzoriek. Negatívnych vzoriek

bolo 49 (68,06 %). Z tohto počtu nazálnych nosičov *S. aureus* bolo citlivých na meticilín 19 vzoriek (82,61 %) (MSSA). V skupine stomatologických pracovníkov s pozitívnym výsledkom na *S. aureus* (23) boli identifikované iba 4 izoláty (17,39 %), ktoré boli na meticilín rezistentné (MRSA). U 19 stomatologických pracovníkov sme MRSA neidentifikovali. *S. aureus* sa vyskytoval v skupine študentov Trnavskej univerzity v 45 prípadoch (34,09 %) z celkového počtu 132 vyšetrených vzoriek. Negatívnych vzoriek bolo 87 (65,91 %). Z celkového počtu 45 pozitívnych vzoriek v skupine študentov boli identifikované iba 2 izoláty (4,44 %) rezistentné na meticilín (MRSA) a citlivých na meticilín bolo 43 izolátov (95,56 %). Pri porovnávaní zistených hodnôt, ktoré sa týkali výskytu meticilín rezistentného kmeňa *S. aureus* v dvoch skupinách – v skupine stomatologických pracovníkov a v skupine študentov LVMvZ, FZaSP Trnavskej univerzity sme zistili, že šanca výskytu MRSA bola v skupine stomatologických pracovníkov 4,53-krát vyššia ako v skupine študentov (17,39 % vs. 4,4 %). Testom sme zistili, že medzi týmito dvomi porovnávanými skupinami nie je štatisticky významný rozdiel vo výskyte MRSA ($p = 0,1693$). Prínosným by však bolo pokračovanie štúdie s väčším počtom participantov.

Kľúčové slová: MRSA. *S. aureus*. Pracovníci stomatologických ambulancií

ODBERY VZORIEK OVZDUŠIA NA STANOVENIE MIKROBIOLOGICKÝCH UKAZOVATEĽOV VO VNÚTORNOM PROSTREDÍ BUDOV

KANIKOVÁ M.^{1,3}, UMRIAN M.^{1,3}, PAVLEOVÁ E.¹, KNOŠKOVÁ E.²

¹ Odbor objektivizácie faktorov životných podmienok, Úrad verejného zdravotníctva Slovenskej republiky, Bratislava

² Vysoká škola zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety, Bratislava

³ Autor je študentom doktorandského štúdia na Vysokej škole zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety v Bratislave

Energetická kríza a s ňou spojený nárast cien všetkých druhov energií viedli k zmenám v konštrukčno-stavebnom riešení budov, budovaniu tzv. utesnených budov s cieľom zabrániť únikom tepla. Obmedzilo sa aj prirodzené vetranie vnútorných priestorov. Pozitívny efekt spočívajúci v úspore energie priniesol so sebou aj menej priaznivé efekty ako nevhodné vnútorné prostredie so sklonom k tvorbe plesní.

Keďže 85 až 90 % svojho života prežijeme „zatvorení“, je potrebné pre zabezpečenie zdravia ľudí a ich pohody vhodné vnútorné prostredie. Problematika

vnútorného prostredia je jednou z hlavných priorít verejného zdravotníctva, ktoré vyplýva zo zákona č. 355/2007 Z. z. o ochrane, podpore a rozvoji verejného zdravia a o zmene a doplnení niektorých zákonov.

Okrem toho sú plesne (mikroskopické vlákňité huby) uvádzané ako významné alergény a ochorenia z nich sa vyskytujú čoraz častejšie.

Práve z vyššie uvedených dôvodov v poslednom období rastú požiadavky na mikrobiologickú kontrolu kvality prostredia.

Aby tieto vyšetrenia mali skutočnú výpovednú hodnotu, je potrebné klásť veľký dôraz aj na správnu techniku odberov. Správny odber vzoriek by mal viesť k odhaleniu zdrojov znečistenia ovzdušia. Len na základe takýchto zistení je možné prijať nápravné opatrenia, ktoré zabezpečia vyhovujúce vnútorné ovzdušie.

Kľúčové slová: Odbery. Vnútorné prostredie budov. Ovzdušie. Plesne. Mikrobiologická kontrola

PORUCHY METABOLIZMU ŽELEZA

KAŠČÁK M.

Fakultná nemocnica Trenčín

Železo (Fe) hrá v histórii ľudstva dôležitú rolu. Či už pre jeho považovaný Božský pôvod, pretože je v meteoritoch. V železnej dobe bolo Fe cennejšie ako zlato. V stredoveku bolo substanciou pre liečbu mnohých chorôb. Magnetické pole Zeme pomáha rôznym živočíchom v orientácii pri putovaní. Nezastupiteľná úloha Fe v organizmoch je daná jeho unikátnym redoxným potenciálom.

Poruchy metabolizmu železa patria medzi najčastejšie patologické stavy v klinike. Vznikajú buď pri nedostatku alebo nadbytku železa v organizme. Pri jeho nedostatku vzniká sideropenická anémia na ktorú trpí viac ako 500 miliónov ľudí, najmä v rozvojových krajinách. Zvýšené množstvo Fe v organizme z primárnych príčin je pri hemochromatózach, aceruloplazminémii, atransferinémii, vrodenej dyserythropoetických anémiách, Gracilovom syndróme, hereditárnej hyperferitinémii s kataraktou a pri hereditárnej xerocytóze. Sekundárne vzniká hypersiderémia pri závažných hemolytických stavoch, nefektívnej erythropoéze, β -talasémii, kosáčikovitej anémii, Diamondovej-Blackfanovej anémii a pri myelodysplastickým syndróme. Hemosideróza u nich vzniká posttransfúzne.

Náš záujem sa najviac sústredil na hemochromatózy. Objavenie génu pre hereditárnu hemochromatózu (HFE) viedlo k prekvapujúcemu zisteniu, že tieto stavy, spôsobené signálnou bodovou mutáciou patria medzi najčastejšie monogénové dedičné choroby vôbec. Výskyt najčastejšej mutácie – C282Y, je v Európe v homozygotnom stave 0,08-0,5 % a v heterozygotnom 2,95-10 %. Dispen-

zarizujeme 47 pacientov s hereditárnou hemochromatózou (HH). 18 mužov a 29 žien, priemerného veku 49,52 rokov (10-66). 43 pacientov má HH 1. typu a štyria majú HH 2A typu. HH 2A typu vzniká mutáciou génu pre hemojuvelin (HJV). V spolupráci s Univerzitou v Heidelbergu sme sa podieľali na objavení novej mutácie HJV génu: G320V/S328sfX337:4 u všetkých štyroch našich pacientov s juvenilnou formou HH. Ďalším dôvodom pre náš záujem o HH sú nielen pokroky v diagnostike, najmä molekulovo-genetickej, ale aj veľká škála symptómov, vznikajúcich pri ich formách. Tie sú spôsobené poškodením rôznych orgánov fibrogenézou preoxidatívnym účinkom voľného Fe⁺⁺ cez Fentonovu, Haberovu-Wiesonovu reakciu. Keď sa choroba zistí včas, liečba je veľmi efektívna. Významné sú pokračujúce poznatky v metabolizme Fe s dominantnou úlohou hepcidínu (HAMP) a jeho pro- a antiregulátorov. Sľubnou sa javí rola interleukínu-6, ktorý cez svoj receptor reguluje cez STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) tvorbu HAMP. To bude mať veľký význam na liečbu anémie z chronických chorôb. Výskum je tiež zameraný na príčiny rôznej expresie a penetrancie mutácií génu HFE. Pretože až 50 % mužov s HH má sexuálne poruchy výskum sa zamerá na transport Fe v testis. To významne ovplyvnilo liečbu týchto porúch, včítane mužskej infertility. Zmenil sa pohľad na diabetes mellitus u týchto pacientov. Dokázané sú rozdiely zistenej hyperferitinémie u HH a v súčasnosti veľmi aktuálnom metabolickom syndróme.

Zaujímavý je aj vzťah hyperurikémie k metabolizmu Fe, ako aj pri paroxyzmálnej nočnej hemoglobínemii. Z doterajších poznatkov možno zhrnúť, že sa zvyšuje počet diagnostikovaných prípadov HH, objavujú sa ďalšie mutácie, dokonca v krajinách, kde je nízka incidencia HH. Bola zistená raritná homozygotná mutácia HJV, ktorá vznikla paternálnou dizómiou. Ukazuje sa, že mutácie HFE môžu byť aj prospešné.

Kľúčové slová: Význam železa. Anemické syndrómy. Preťaženie organizmu železom. Nové mutácie génov pôsobiacich v metabolizme železa. Význam mutácií HFE

ZMENY VO FILOZOFICKOM PRÍSTUPE V POŽIADAVKÁCH AKREDITAČNEJ SCHÉMY ISO/IEC 17025:2017

KIJOVSKÁ L.

Slovenská národná akreditačná služba

V roku 2017 bolo vydané tretie vydanie normy ISO/IEC 17025, ktoré špecifikuje všeobecné požiadavky na spôsobilosť, nestrannosť a konzistentnú činnosť laboratórií. Norma je použiteľná na všetky organizácie vykonávajúce laboratórne činnosti bez ohľadu na počet

zamestnancov. Tento dokument môžu používať na potvrdenie alebo uznanie spôsobilosti laboratórií aj zákazníci laboratórií, regulačné orgány, organizácie a systémy používajúce vzájomné posúdenie a akreditačné orgány.

Je možné konštatovať, že sa nejedná o radikálne zmeny v technických požiadavkách, potrebné je však povedať, že filozofický rámec sa významne posunul. Vydanie normy ISO/IEC 17025 :2005 je zamerané na direktívne požiadavky. Nové vydanie kladie zodpovednosť za riešenia požiadaviek na samotné laboratórium, čo znamená významný posun v nazeraní na zodpovednosť laboratória za vlastnú prácu.

Hlavnými cieľmi revízie normy ISO/IEC 17025 bolo zladenie štruktúry a obsahu normy s inými nedávno revidovanými normami ISO a zameranie požiadaviek skôr na výsledky než na predpisy. Ich prejavom je modernizácia jazyka a zmena filozofie normy. K najvýznamnejším zmenám je možné priradiť reštrukturalizáciu normy, kde sú jasne popísané požiadavky na štruktúru, zdroje a procesy. Norma uvádza tieto požiadavky v logickom členení a predpokladá, že laboratória tak budú všeobecné požiadavky na kompetentnosť lepšie chápať v kontexte svojej práce a svojho manažérskeho systému.

Ďalšou významnou zmenou je možnosť využitia systému manažérstva podľa normy ISO/IEC 9001, pri dodržaní požiadaviek normy ISO/IEC 17025:2017.

Tretie vydanie normy priamo v predhovore špecifikuje tie zmeny, ktoré považuje za najvýznamnejšie. Sú to: (A) prístup založený na zvažovaní rizík – umožní určité zníženie normatívnych požiadaviek a ich nahradenie požiadavkami na výkonnosť; (B) väčšia flexibilita v požiadavkách na procesy, postupy, dokumentované informácie a organizačné zodpovednosti a (C) pridanie definície laboratória.

Významný prvok, ktorý vstúpil do normy, je kapitola zvládanie rizík a príležitostí. Aj keď táto požiadavka nie je úplne nová, v tomto znení normy je jasne definovaná požiadavkami. Plánovanie a implementácia opatrení určených na zvládanie rizík a príležitostí znamená napríklad zavádzanie efektívnych nástrojov do svojho systému manažérstva. Zohľadnenie rizík a príležitostí vytvára základ pre zvýšenie efektívnosti systému manažérstva, dosiahnutie lepších výsledkov a predchádzanie negatívnym vplyvom. Norma dáva laboratóriám zodpovednosť za rozhodovanie o tom, ktorým rizikám a príležitostiam je potrebné sa venovať.

Laboratórium je definované ako orgán, ktorý vykonáva jednu alebo viaceré z týchto činností: skúšanie, kalibrácia, odber vzoriek spojený s následným skúšaním alebo kalibráciou.

V treťom vydaní normy ISO/IEC 17025 je uvedená nová kapitola 7.11 riadenie dát a manažment informácií, ktorej požiadavky nie sú úplne nové, ale požiadavky sú jasnejšie definované pričom je určená pre všetky laboratória s manažérstvom údajov v počítačových systémoch alebo mimo nich.

Tento dokument bol vypracovaný s cieľom podporiť dôveru v pracovnú činnosť laboratórií a obsahuje požiadavky pre laboratóriá, ktoré im umožnia preukázať, že pracujú kompetentne a sú schopné poskytovať platné výsledky. Použitie tohto dokumentu uľahčí aj spoluprácu medzi laboratóriami a inými orgánmi a pomôže pri výmene informácií a skúseností a pri harmonizácii noriem a postupov.

Kľúčové slová: Akreditácia. ISO/IEC 17025. Laboratórium. Riziko

VÝZNAM TESTOVANIA ŽLČOVÝCH KYSELÍN POČAS TEHOTENSTVA

KOHÚTOVÁ J.

Randox, Bratislava

Intrahepatálna cholestáza počas tehotenstva alebo obsterická cholestáza je známy bežný stav pečene postihujúci ženy počas druhého a tretieho trimestra tehotenstva, pri ktorom dochádza k obmedzeniu toku žlče cez žlčník, čo vedie k nahromadeniu žlčových kyselín v pečeni. V dôsledku daného stavu žlčové kyseliny presakujú do krvného obehu, kde sú zistené pri zvýšených koncentráciách. Cholestáza je závažná komplikácia počas tehotenstva a môže viesť k zvýšenému riziku pocitu úzkosti plodu, predčasného pôrodu a dokonca aj k odumretiu plodu.

Kľúčové slová: Tehotenstvo. Obsterická cholestáza. Pečeň. Žlčové kyseliny

OPAKUJÚCE SA CHYBY PRI REALIZÁCIÍ oGTT V GRAVIDITE - NUTNÁ EDUKÁCIA ZDRAVOTNÍCKEHO PERSONÁLU AKO AJ PACIENTOV

KOLÁROVÁ A.¹, BUOCIKOVÁ D.¹, ZUKALOVÁ K.¹, MELEGOVÁ J.²

¹ *KLINICKÁ BIOCHÉMIA s.r.o., Medicínske laboratórium v Martine*

² *KLINICKÁ BIOCHÉMIA s.r.o., Medicínske laboratórium v Žiline*

Aj keď téme ohľadne oGTT bolo venované už mnoho času, neustále sa na pracovisku stretávame s pretrvávajúcimi chybami (príprava pacienta, samotný odber, dodržiavanie kľudu medzi jednotlivými časovými odbermi a pod.). Tieto pre niekoho nenápadné faktory v skutočnosti ovplyvňujú reálny číselný výsledok. Krv je živý materiál a neustále sa mení vplyvom enzymatických

procesov (ak ich vhodným spôsobom nezastavíme), lekár potom pracuje s číselnou hodnotou, ktorá by mala odrážať aktuálny stav.

Ak má mať vyšetrenie zmysel a odrážať aktuálny stav pacienta, musia byť dodržané všetky podmienky predanalytickej, analytickej a aj postanalytickej fázy vyšetrenia. Preto je nevyhnutná neustála edukácia nielen zdravotníckeho personálu (lekár, sestra, ošetrovateľ, laboratórny diagnostik, laborant), ale aj samotného pacienta, u ktorého má byť vyšetrenie realizované.

Cukrovka v gravidite si vyžaduje zvýšenú zdravotnú starostlivosť či už sa jedná o diabetes I alebo II. typu, prípadne o iný špecifický typ cukrovky. Gestačný diabetes komplikuje približne 3-4 % všetkých tehotností a jeho výskyt narastá pravdepodobne so zvyšujúcim sa vekom a narastajúcou hmotnosťou matiek. Nepoznaná a neliečená tehotenská cukrovka môže mať nepriaznivý vplyv na plod a na zdravotný stav matky. Gestačný diabetes po pôrode ustupuje. Predstavuje však 30% až 50% riziko vzniku cukrovky II. typu počas ďalšieho života rodičky (preto sa v súčasnosti stanovuje u všetkých gravidných medzi 24. a 28. týždňom gravidity). Pri pozitívnom výsledku testu gynekológ odošle pacientku do diabetologickej ambulancie na ďalšie diagnostické doriešenie, liečbu a sledovanie. Včasná a účinná liečba tehotenskej cukrovky zlepšuje prognózu dieťaťa aj matky.

V práci v prvej časti prezentujeme chyby, s ktorými sa stretávame pri realizácii oGTT zo strany zdravotníckeho personálu a pacientov. V druhej časti prezentujeme materiál, ktorý by mal pomôcť pri odstraňovaní nedostatkov pri realizácii oGTT.

Kľúčové slová: Gestačný diabetes. oGTT. Cukrovka. Gravidita. Indikácie. Diagnostické kritériá. Laboratórne vyšetrenia. Možné chyby

VÝZNAM SPOLUPRÁCE LABORATÓRNYCH, PORADENSKÝCH A KLINICKÝCH ZDRAVOTNÍCKYCH ODBORNÍKOV PRE DOSIAHNUTIE MERATEENÝCH VÝSLEDKOV V OCHRANE A PODPORE ZDRAVIA

KOTRBOVÁ K., TRECHOVÁ M.

Slovenská komora iných zdravotníckych pracovníkov, Bratislava

Prezentácia sa zameriava na zdôraznenie významu komunikácie, tímovej spolupráce a vzájomnej koordinácie činností laboratórnych pracovníkov a poradenských a klinických zdravotníckych odborníkov v ochrane a podpore zdravia a zdravotnej starostlivosti ako základný predpoklad pre dosiahnutie kvalitného výsledku – teda udržania alebo zlepšenia zdravia jednotlivca, skupín obyvateľstva ako aj celých populácií v kontexte

aktuálnych národných a nadnárodných legislatívnych, strategických, programových a projektových dokumentov týkajúcich sa prevencie.

Kľúčové slová: Laboratórna diagnostika. Zdravotná starostlivosť. Podpora zdravia. Poradenstvo. Multidisciplinárna tímová spolupráca. Kvalita

NEKTORE PROBLÉMY LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKY V EU A SK

KOVÁČ G., PORUBENOVÁ A.

Ústav chémie, klinickej biochémie a laboratórnej medicíny, Lekárska fakulta, Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava

Cieľom príspevku je diskutovať niektoré problémy laboratórnej diagnostiky v SK a EU zo zorného uhla UCHKBLM LF SZU a SSLM. Vychádzame z postavenia a činnosti inštitúcií, ktoré podľa nášho názoru predstavujú hlavných hráčov v laboratórnej diagnostike. Diskutujeme hlavné problémy, ktoré v oblasti laboratórnej diagnostiky podľa nášho názoru existujú.

EFLM je odborná organizácia združujúca lekárov aj nelekárov, ktorá vyvíja aktivity v rôznych oblastiach laboratórnej diagnostiky. V posledných rokoch sa sústreďuje na presadenie spoločnej vzdelávacej platformy (*Common Training Framework*) pre lekárov a nelekárov a vytvorenie celoeurópskeho registra pre špecialistov v laboratórnej medicíne pre celú EU.

UEMS je stavovská a odborná organizácie združujúca len lekárov. Vo svojej činnosti sa opiera o syllabus (*Blue Book*) pre vzdelávanie lekárov v mono- aj polyvalentných odboroch laboratórnej diagnostiky. Presadzujú dominanciu postavenia lekárov v laboratórnej diagnostike.

SSLM je odborná spoločnosť, ktorá vznikla v roku 2002 s cieľom presadiť do legislatívy aj do liečebno-preventívnej praxe polyvalentný odbor laboratórnu medicínu a zrovnoprávniť postavenie lekárov a nelekárov v odbore. To sa jej vcelku podarilo.

SSKB je odborná spoločnosť s dlhoročnou tradíciou zastávajúca skôr monovalentný prístup k laboratórnej diagnostike a dominanciu postavenia lekárov v odbore.

SZU je inštitúciu s viac ako polstoročnou tradíciou a vynikajúcou povestou v postgraduálnom vzdelávaní lekárov, farmaceutov a iných zdravotníckych pracovníkov doma a v zahraničí. Posledné desaťročie je nútená v dôsledku zmeny legislatívneho realizovať aj pregraduálne vzdelávanie lekárov a iných zdravotníckych pracovníkov.

Existujú aj ďalšie inštitúcie, ktoré tiež predstavujú hlavných hráčov v oblasti laboratórnej diagnostiky (MZ

SR, zdravotné poisťovne, SLK, SKIZP, UDZS a iné), činnosťou, ktorých sa v tomto príspevku nezaobráme.

Problémy – Finacovanie: laboratórna diagnostika v SR je v porovnaní s väčšinou krajín EU podfinancovaná. *Postgraduálne vzdelávanie na SZU:* SR ako jedna z dvoch krajín v rámci EU čo spĺňa všetky kritériá „Common Training Framework“ deifnové EFLM, čo je na medzinárodných fórach vysoko hodnotené. Už viac rokov však vďaka zmene legislatívneho rámca v SR je zahľtené problematikou zabezpečovania pregraduálneho vzdelávania v chémii, biochémii a laboratórnej medicíne, čím problematika postgraduálneho vzdelávania ustupuje do pozadia. *Klinické laboratóriá:* sú vo väčšine prípadov v rukách vedúcich pracovníkov, ktorí nemajú odbornú spôsobilosť pracovať v odboroch laboratórnej diagnostiky. Situácia v EU nie je tak vypuklá ako u nás, hoci je analogická, i keď na inej úrovni a v inej polohe. *Vzťahy lekári a nelekári:* na úrovni európskych inštitúcií existuje antagonizmus vo vzťahoch lekári a nelekári. V rámci SR tento antagonizmus, hoci existuje, nie je tak výrazný: v niekoľkých odboroch (napr. Laboratórna medicína) dokonca prakticky neexistuje. Záujem o prácu v odbore laboratórnej diagnostiky je vo všeobecnosti či v EU alebo SK medzi lekármi malý. Existujú aj ďalšie problémy v oblasti laboratórnej diagnostiky, ktorými sa však v tomto príspevku nezaobráme.

Medzi EFLM a UEMS existuje antagonizmus. Medzi SSLM a SSKB existoval posledné 2 dekády výrazný antagonizmus: situácia sa v posledných rokoch zlepšila, stále však existujú rezervy. SZU a SSLM od začiatku vždy intenzívne spolupracovali a vzájomne sa podporovali. Postgraduálne vzdelávanie v klinickej biochémii a laboratórnej medicíne na SZU trpí nedostatkom zdrojov. Laboratórna diagnostika v liečebno-preventívnej praxi je ovládaná hlavne komerčnými záujmami; viaceré odbory majú následkom toho problémy. Vo vzťahoch medzi lekármi a nelekármi existujú rezervy rezervy. Záujem o prácu v laboratórnych odboroch medzi lekármi je malý, u nelekárov stagnuje, jedine u laborantov s vysokoškolským vzdelaním stúpa.

Doporučenia:

- Je nevyhnutné vytvoriť normálny stav pre poskytovanie postgraduálneho vzdelávania v klinickej biochémii a laboratórnej medicíne na SZU.
- Je potrebné zlepšovať vnútornú štruktúru a efektivitu činnosti SSKB a SSLM a na tomto základe prehlbovať spoluprácu medzi oboma spoločnosťami.
- Klinické laboratóriá musia viesť zdravotníckimi pracovníkmi s odbornou spôsobilosťou v príslušných odboroch.
- Treba sa sústreďiť na hľadanie nových a atraktívnejších foriem práce v laboratórnej diagnostike.
- Na úrovni EU by bolo dobré zachovať tradíciu „Joint UEMS and EFLM Conferences“.

Kľúčové slová: Financovanie. Vzdelávanie. Spolupráca medzi odborními

STANOVENIE VYBRANÝCH ŤAŽKÝCH KOVOV VO VODNÝCH VZORKÁCH

KRIEGEROVÁ K., PROCHÁZKOVÁ S.,
BAČOVÁ M., HALKO R.

*Katedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta,
Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava*

V súčasnej dobe pri stále rozširujúcej industrializácii sa vyžaduje analýza vzoriek (voda, pôda, atď.), ktoré súvisia so životným prostredím. Životné prostredie je kontaminované rôznymi polutantmi organického a anorganického pôvodu. Medzi rozšírené anorganické polutanty patria aj ťažké kovy, ako napríklad kobalt, nikel a chróm, ktorých vysoké koncentrácie môžu byť toxické pre ľudský organizmus, faunu, flóru i vodný ekosystém.

Kobalt (Co) patrí do skupiny esenciálnych prvkov, ktoré sú v stopových koncentráciách nevyhnutné pre fyziologický priebeh metabolických funkcií. Je súčasťou vitamínu B12 (kobalamín), ktorý sa podieľa na tvorbe červených krviniek, chráni pred vznikom ischemickej choroby srdca a zúčastňuje sa na metabolizme tukov, bielkovín a cukrov [1]. Na druhej strane, zvýšená koncentrácia kobaltu môže byť príčinou kardiomyopatie či vazodilatácie. Pri kontakte s kožou môže spôsobiť dermatitídu [2]. *Nikel (Ni)* je súčasťou enzýmu ureázy, a preto sa považuje za nevyhnutný pre rastliny a niektoré zvieratá. Esencialita niklu u ľudí nebola preukázaná, naopak, už pri nízkych koncentráciách môže vyvolať alergické reakcie a jeho zlúčeniny sú potenciálne karcinogénne. Ióny niklu môžu prenikať cez póry a mazové žľazy vnútri kože, čo vedie k alergickému zápalu kože. Ďalšími príznakmi sú dermatitída, respiračné poruchy a rakovina dýchacích ciest [3]. *Chróm (Cr)* je v nepatrnom množstve konštantne prítomný v tele a má značnú biologickú dôležitosť. Zasahuje do metabolizmu cukrov a tukov. V jedovatosti zlúčenín chrómu sú veľmi značné rozdiely, ktoré sa odvíjajú od toho, v akej valencii v nich chróm vystupuje. Účinky zlúčenín Cr^{2+} a Cr^{3+} sú malé, účinky zlúčenín Cr^{6+} sú veľmi závažné. Krátkodobá vysoká expozícia Cr^{6+} má nepriaznivé účinky v mieste kontaktu: napríklad vredy na koži pri dotyku, podráždenie nosnej sliznice, podráždenie tráviaceho ústrojenstva po orálnej expozícii. Môže tiež nepriaznivo pôsobiť na obličky a črevá. Dlhodobé pôsobenie sa prejavuje tvorbou vredov a nádorov nosnej dutiny, pľúc a zažívacieho traktu a leptavým účinkom na koži a sliznici. Cr^{6+} je klasifikovaný ako ľudský karcinogén, spôsobujúci rakovinu pľúc [4].

Preto je z hľadiska verejného zdravotníctva ako aj ochrany životného prostredia dôležité monitorovanie

stavu vôd [5]. V rámci analytickej chémie sa stále väčšia pozornosť venuje analýze stopových a ultrastopových koncentračných úrovní ťažkých kovov v rôznych vodných vzorkách. Jednou z najpoužívanejších analytických techník, ktoré sa používajú na analýzu vodných vzoriek je atómová absorpčná spektrometria s elektrotermickou atomizáciou (ETAAS), najmä pre svoju vysokú citlivosť [6].

V prezentovanej práci na stanovenie chrómu a jeho špecií, kobaltu a niklu bola použitá technika dávkovania jemnej suspenzie s atómovou absorpčnou spektrometriou s elektrotermickou atomizáciou a s úpravou vzoriek pomocou extrakcie tuhou fázou (SPE-SS-ETAAS). Medza detekcie stanovenia pre Cr^{3+} bola 0,27 $\mu\text{g/l}$; pre Cr^{6+} 0,48 $\mu\text{g/l}$; pre Co a Ni bola určená na 1,11 $\mu\text{g/l}$ a 1,44 $\mu\text{g/l}$. Uskutočnenie extrakcie tuhou fázou využitím nanosorbentu ZrO_2 umožňuje dosiahnuť kvantitatívnu výťažnosť analytov (> 90 %) a v spojení s detekciou SS-ETAAS realizovať extrakčný proces bez potreby kroku elúcie. Vyvinutá metóda bola úspešne použitá na stanovenie Cr, Co a Ni vo vzorkách vôd.

Kľúčové slová: Vodné vzorky. Kobalt. Nikel. Chróm. Toxicita. Analýza

Podakovanie

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. SK-KR-18-0009 a grantu UK/36/2018.

Literatúra

- [1] Periodická tabuľka, Kobalt, popis a vlastnosti. Dostupné na internete: <http://www.prvky.com/27.html>
- [2] IMUNO-ALERGO, Alergia na kobalt. Dostupné na internete: <https://www.imuno-alergo.sk/kontakt-na-kozna-alergia/alergia-na-kobalt/>
- [3] DAI, Y. et al. Utilizations of agricultural waste as adsorbent for the removal of contaminants: A review. *Chemosphere*. 2018; 211: 235-253.
- [4] Chrom a jeho sloučeniny (jako Cr). Dostupné na internete: https://www.irz.cz/repository/latky/chrom_a_jeho_slouceniny.pdf
- [5] DOBROWOLSKI, R., OTTO, M. Determination of nickel and cobalt in reference plant materials by carbon slurry sampling GFAAS technique after their simultaneous preconcentration onto modified activated carbon. *J. Food Compos. Anal.* 2012; 26 (1-2): 58-65.
- [6] FERREIRA, S.L.C. et. al. Slurry sampling-an analytical strategy for the determination of metals and metalloids by spectroanalytical techniques. *Appl. Spectros. Rev.* 2010; 45: 44-62.

BAKTERIÁLNE MENINGITÍDY VO FAKULTNEJ NEMOCNICI TRENČÍN V RO- KOCH 2014-2018

KRIVDOVÁ N.

Oddelenie klinickej biochémie, hematológie a mikrobiológie, Fakultná nemocnica Trenčín, Trenčín

Bakteriálna meningitída ako jedna z foriem akútnych infekcií centrálného nervového systému je závažným medicínskym problémom, ktorý vyžaduje rýchly diagnostický a terapeutický zásah. Najdôležitejšou diagnostickou metódou je lumbálna punkcia, ktorej výsledok ukazuje, ktorým smerom sa má uberať ďalší hlavne terapeutický postup. Ochorenie vzniká na podklade invázií baktérií do likvoru. Má charakteristickú etiológiu, kedy sa infekcie zúčastňuje relatívne úzke spektrum pôvodcov. Dochádza k zápalu mozgových obalov s purulentnou reakciou v likvore a rozvojom ťažkého klinického stavu s typickou symptomatológiou. Infekcia je celková, invazívny vyvolávateľ sa šíri prakticky vždy systémovo a prejavy sepsy sú pravidlom. V trenčianskej nemocnici sme v rokoch 2014 až 2018 zaznamenali 17 purulentným meningitíd, ktorých pôvodcom bol v najväčšej miere *Streptococcus pneumoniae*. Pneumokoková meningitída je v našich podmienkach najčastejšie sa vyskytujúcou hnisavou meningitídou u pacientov starších ako 60 rokov, u ktorých sa často súčasne diagnostikuje pneumokoková pneumónia. Ďalšími pôvodcami meningitíd boli *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa* a v prípade troch novorodencov *Streptococcus agalactiae*, *Citrobacter freundii* a *Escherichia coli*. Liečba hnisavých meningitíd by mala byť začatá čo najskôr od vyslovenia podozrenia na neuroinfekciu. Liečbu je nutné začať empiricky a následne modifikovať podľa výsledkov antibiotickej citlivosti. Hnisavé neuroinfekcie patria k závažným ochoreniam vyžadujúcim intenzívnu starostlivosť a právom sa zaraďujú medzi najobávanejšie ochorenia v infektológii.

Kľúčové slová: Meningitída. Likvor. Liečba

THE ACTIVITIES OF ECHINOCANDINS AGAINST *IN VIVO* *CANDIDA ALBICANS* AND *CANDIDA GLABRATA* BIOFILMS STUDIED BY BIOLUMINESCENCE IMAGING

KUCHARÍKOVÁ S.^{1,2,3}, ROGIERS O.^{1,2,4,5}, PERSYN A.^{1,2}, BROCK M.⁶, VANDE VELDE G.⁷, HIMMEL-REICH U.⁷, LAGROU K.⁸, VAN DIJCK P.^{1,2}

¹ VIB-KU Leuven Center for Microbiology, Belgium

² Laboratory of Molecular Cell Biology, Institute of Botany and Microbiology, KU Leuven, Belgium

³ Katedra laboratórnych vyšetrovacích metód v zdravotníctve, Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnavská univerzita v Trnave, Trnava, Slovenská republika

⁴ Center for Inflammation Research, VIB, Belgium

⁵ Department of Internal Medicine, Ghent University, Belgium

⁶ School of Life Sciences, University of Nottingham, United Kingdom

⁷ Biomedical MRI/MoSAIC, Department of Imaging & Pathology, KU Leuven, Belgium

⁸ KU Leuven, Department of Microbiology and Immunology, Laboratory of Clinical Bacteriology and Mycology, Belgium

Candida albicans and *Candida glabrata* are emerging human fungal pathogens causing mucosal and deep tissue infections. Majority of these infections are associated with biofilm formation on medical implants. Biofilms are difficult to treat as they are tolerant to most antifungals. Very recently a subcutaneous catheter mouse model system has been developed to test antifungals against fungal biofilms. Fungal load in biofilms is traditionally analyzed *post mortem*, requiring host sacrifice and enumeration of microorganisms from individual biofilms to evaluate the efficacy of antifungal treatment. In this study, we aimed to use bioluminescence imaging (BLI) in mice, where detecting a quantifiable *in vivo* BLI signal from biofilms formed in catheters is challenging. Wild-type bioluminescent strains based on a *C. albicans*- and *C. glabrata*-codon optimized firefly luciferase were engineered. *In vitro* adhesion (90 min) and mature biofilms (24 h) were developed inside serum-coated polyurethane catheters and in 96-well polystyrene plates. *In vivo* *C. albicans* and *C. glabrata* biofilms were studied in catheters implanted on the back of immunocompetent BALB/c mice. *In vivo* biofilms were imaged with BLI at time of implant and followed up after 2 and 6 days. To validate the model for antifungal testing, mice were treated with fluconazole or caspofungin and imaged with BLI. Bioluminescent signal was measured and correlated with colony forming units (CFU). We report significant bioluminescent signal from *Candida* biofilm-forming cells *in vitro*, which were in agreement with CFU counts at different stages of biofilm maturation. We could detect a significant *in vivo* BLI signal from biofilms formed in live animals at different time points after catheter implant that was in agreement with CFU retrieved from explanted catheters. Caspofungin was active against *in vivo* *C. albicans*, as well as *C. glabrata* biofilms, whereas fluconazole failed to reduce *Candida* biofilms. In this study, we demonstrate the feasibility to non-invasively image and quantify *C. albicans* and *C. glabrata* biofilms *in vitro* and *in vivo* by using BLI in the subcutaneous catheter model, making dynamic monitoring biofilm development possible. This model enables more efficient *in vivo*

assessment of novel antifungal therapies, which we are currently validating.

Key words: *Candida albicans*. *Candida glabrata*. Bio-film. Echinocandins. Bioluminescence

IMUNOLOGICKÝ VÝZNAM KOMPONENTOVEJ DIAGNOSTIKY

MACEJOVÁ M., ŠVÁBOVÁ B., KUŽMA T.

Analyticko-diagnostické laboratórium a ambulancie s.r.o., Prešov

Alergie a pridružené respiračné ochorenia predstavujú obrovský a neustále narastajúci problém v zdravotnej starostlivosti. Včasná a presná diagnostika je teda pre pacienta a jeho liečbu nevyhnutná.

Konvenčná diagnostika alergických reakcií spojených s tvorbou IgE protilátok (alergická reakcia I. typu) zahŕňa kožné „prick“ testy alebo stanovenie špecifického IgE v krvnom sére. Využívajú sa pri tom alergénové extrakty jednotlivých alergénov alebo ich zmesi získavané z rôznych biologických materiálov (napr. roztoče, plesne, peľ, potraviny). Diagnostický extrakt môže obsahovať zmes druhovo špecifických komponent, ako aj skrížene reagujúce komponenty. Štandardnými diagnostickými postupmi možno potvrdiť senzibilizáciu alergénom, ale asi u jednej štvrtiny pacientov nemožno pomocou alergénových extraktov stanoviť presný alergén, ktorý spustil alergickú reakciu.

Pokrok v molekulárnej biológii za posledné roky umožnil podrobnú identifikáciu jednotlivých alergénov na molekulárnej úrovni. Alergénové extrakty obsahujú viaceré molekulové zložky, tzv. alergénové komponenty. Na rozdiel od extraktov majú komponenty presne definované molekulárne zloženie. Pripravujú sa buď rekombinantnými technikami (rekombinantné komponenty) alebo purifikáciou alergénového extraktu (natívne komponenty). V súčasnosti je pre *in vitro* diagnostiku dostupných približne 200 komponent z rôznych zdrojov.

Na základe biochemickej a štruktúrnej podobnosti, avšak nezávisle od ich biologického pôvodu, možno jednotlivé komponenty zoskupiť do niekoľkých proteínových rodín: PR-10 (proteíny súvisiace s patogenézou); nsLTP (nešpecifické lipid transfer proteíny); Profilíny; Zásobné proteíny semien a orechov; Polkalcíny (kalcium viažuce proteíny); CCD (krížovo reagujúce karbohydrátové determinanty).

Z podobnej biochemickej charakteristiky alergénových komponent vyplýva miera ich stability voči teplu či tráviacim enzýmom. Zjednodušene možno povedať, že nestabilné komponenty spôsobujú skôr lokálne alergické reakcie, stabilné komponenty skôr systémové. Komponentová diagnostika preto umožňuje lekárovi zhodnotiť

mieru rizika alergie, najmä potravinovej, a odhadnúť riziko lokálnej alebo systémovej alergickej reakcie.

Alergénové komponenty sa ďalej rozdeľujú na druhovo špecifické alebo skrížene reagujúce. Za skríženú reaktivitu komponent sú zodpovedné štruktúrne podobnosti rôznych proteínov. Na základe skríženej reaktivity sa môžu u pacienta tvoriť IgE protilátky voči príslušnému senzibilizujúcemu alergénu a súčasne sa môžu u pacienta vyvinúť alergické reakcie na viaceré taxonomicky alebo biochemicky príbuzné alergény z rôznych zdrojov. Prikladom sú pacienti s kombinovanou peľovo-potravinovou alergiou. Pomocou komponentovej diagnostiky u nich možno odlíšiť senzibilizáciu menej rizikovými alergénmi potravín (proteíny PR-10 rodiny, profilíny) od senzibilizácie alergénmi spojenými s vysokým rizikom závažnej alergickej reakcie (zásobné proteíny, nsLTP proteíny). Podobne možno rozlíšiť, či sa u pacienta jedná o kombináciu senzibilizácie inhalačnými a potravinovými alergénmi, alebo precitlivosť na inhalačné alergény dominuje.

Používanie alergénových komponent otvorilo novú éru molekulárnej diagnostiky alergií. Odporúča sa u polysenzibilizovaných pacientov, pacientov s ťažkou potravinovou alergiou, pacientov neodpovedajúcich na liečbu, či pacientov po anafylaktickej reakcii neznámeho pôvodu. Detekcia špecifického alergénového senzibilizátora umožňuje presnejšie diagnostikovať alergickú reakciu, odlíšiť skríženú reaktivitu a primárnu alergiu, odhadnúť riziko možných reakcií, indikovať vhodnú imunoterapiu, v prípade potravinovej alergie odporučiť úpravu stravovania a z celkového hľadiska lepšie monitorovanie stavu pacienta.

Ľúčové slová: Špecifické IgE. Alergénové komponenty. Alergénové extrakty

PRÍTOMNOSŤ ANTIGÉNU Kell U DARCU KRVÍ

MÉSZÁROSOVÁ D.

Národná transfúzna služba SR, OC Nové Zámky

V príspevku sa zaoberáme prítomnosťou antigénu Kell u bezpríspevkových darcov krvi. Antigen Kell je vysoko imunogénny. Protilátka anti-Kell vzniká obvykle v dôsledku predchádzajúcej transfúznej liečby a tehotenstva. Po podaní transfúzie vyvoláva ťažkú akútnu alebo oneskorenú hemolytickú potransfúznú reakciu. Hlavným cieľom bolo zistiť prítomnosť antigénu Kell u darcov krvi na našom pracovisku OC NTS SR v Nových Zámkoch. Analyzovali sme Register darcov krvi v odberovom centre NTS SR Nové Zámky.

Zistili sme, že počet darcov krvi v našej databáze s prítomným antigénom Kell sa pohybuje okolo 9 %.

V praxi je našou snahou vyhnúť sa imunizácii anti-Kell protilátkou. Pacienti Kell negatívni by mali dostávať krv Kell negatívnu. Túto zásadu je potrebné dodržiavať hlavne u žien vo fertilnom veku a detí ženského pohlavia (riziko vzniku hemolytickej choroby novorodenca v gravidite) a u perspektívne polytransfundovaných pacientov. Preto nielen u darcov krvi, u ktorých sa vyšetruje povinne, ale aj u príjemcov by bolo potrebné tento antigén vyšetrovať.

Kľúčové slová: Darca krvi. Antigén Kell. Anti Kell protilátka. Skupinový systém Kell

VEREJNÝ ZDRAVOTNÍK A JEHO POSTOJ K VZDELÁVANIU

MIČÍKOVÁ L., SIVČÁKOVÁ L.

Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Trenčíne, Trenčín

Uverejnené v aktuálnom čísle Zdravotníckych listov ako full text (s. 43-47).

ANALÝZA PRODUKCIE KARBAPENEMÁZ U BAKTÉRIÍ IZOLOVANÝCH Z PROSTREDIA ZDRAVOTNÍCKYCH ZARIADENÍ NA SLOVENSKU V ROKOCH 2015 – 2017

MICHÁLIKOVÁ L.^{1,2,3}, HNILICOVÁ S.^{1,4}, BRŇOVÁ J.^{1,2,5}

¹ Katedra laboratórných vyšetrovacích metód v zdravotníctve, Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnavská univerzita v Trnave, Trnava

² Centrum mikrobiológie a prevencie infekcií, Trnavská Univerzita v Trnave, Trnava

³ Oddelenie klinickej mikrobiológie, AnalytX s.r.o., Trnava

⁴ Medirex, Bratislava

⁵ Oddelenie nemocničnej hygieny, Fakultná nemocnica Trnava, Trnava

Kontaminácia prostredia zdravotníckych zariadení multirezistentnými (MDR) patogénnymi organizmami prispieva k záťaži infekciami asociovanými s poskytovaním zdravotnej starostlivosti (HCAI). Produkcia karbapenemáz v súčasnosti patrí k závažným mechanizmom odolnosti baktérii voči antibiotikám. V súvislosti s ich zvyšujúcim sa celosvetovým výskytom je dôležité správne identifikovať producentov karbapenemáz a zamedziť ich šírenie v prostredí zdravotníckych zariadení. Hlavným cieľom štúdie bola analýza výskytu MDR patogénov produkujúcich karbapenemázy, zachytených počas Štátneho zdravotného dozoru v prostredí lôžkových

zdravotníckych zariadení na Slovensku za obdobie rokov 2015 až 2017. Štúdia bola realizovaná v Centre mikrobiológie a prevencie infekcií, Trnavskej univerzity v Trnave, s aktívnou spoluprácou laboratórií mikrobiológie životného prostredia Regionálnych úradov verejného zdravotníctva. Po analýze antibiotickej citlivosti významných patogénov, bola schopnosť produkcie karbapenemáz testovaná rýchlymi diagnostickými testami NG-Test Carba 5. Nasledovalo molekulárne stanovenie prítomnosti génov metódou Gene Xpert Carba-R.

Za obdobie troch rokov bolo celkovo prijatých 2114 environmentálnych vzoriek klinicky a epidemiologicky významných kmeňov baktérií (*Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *E. coli*, *Enterobacter* spp., z grampozitívnych baktérií *Staphylococcus aureus* a *Enterococcus* spp.). Úroveň výskytu MDR kmeňov dosiahla 23,8 % (n=492) izolátov. U gramnegatívnych izolátov (n=985) sme potvrdili odolnosť voči karbapenémom u 57 kmeňov (5,8 %), ktoré boli následne podrobené testovaniu na schopnosť produkcie karbapenemáz. Pomocou metódy Gene Xpert Carba R sme zachytili 8 izolátov ako producentov karbapenemáz, s detekciou génov blaVIM (5 izolátov *Pseudomonas* spp.) a blaNDM (3 izoláty *Klebsiella pneumoniae*). Imunochromatografickou metódou NG-Test Carba 5 sme zachytili 11 izolátov producentov karbapenemáz, konkrétne izoláty VIM, NDM a IMP enzýmov (v poradí 5x *Pseudomonas* spp., 3x *Klebsiella pneumoniae* a 3 izoláty *Pseudomonas* spp.).

Výsledky štúdie poukazujú na závažnú environmentálnu kontamináciu mikroorganizmami s klinicky a epidemiologicky významnými mechanizmami rezistencie. Výsledky môžu čiastočne prispieť k objasneniu príčin šírenia HCAI v prostredí slovenských nemocníc. Zdôrazňujú význam implementácie účinných opatrení zameraných na kontrolu a zastavenie šírenia a pretrvávanie MDR baktérií v environmente zdravotníckych zariadení. V budúcnosti sú na Slovensku potrebné štúdie, identifikujúce skutočnú epidemiologickú situáciu a možnosť porovnania s celosvetovými dátami.

Výskum bol podporený grantom Trnavskej univerzity v Trnave č. 16/TU/2018 „Molekulárno-epidemiologická analýza karbapenemázy produkujúcich baktérií izolovaných z lôžkových zdravotníckych zariadení v SR“.

Kľúčové slová: Multirezistencia. Produkcia karbapenemáz. Nemocničné prostredie. Kontaminácia

MONITOROVANIE ÚROVNE HYGIENY RÚK VO FN TRNAVA

MIŠECHOVÁ Katarína¹, PRNOVÁ Janka^{2,4,5}, BRŇOVÁ Jaroslava^{3,4,5}

¹ Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Trenčíne, Trenčín

² Katedra verejného zdravotníctva, Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnavská univerzita v Trnave, Trnava

³ Katedra laboratórných vyšetrovacích metód v zdravotníctve, Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnavská univerzita v Trnave, Trnava

⁴ Oddelenie nemocničnej hygieny a epidemiológie, Fakultná nemocnica Trnava

⁵ Centrum mikrobiológie a prevencie infekcií, Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnavská univerzita v Trnave, Trnava

Uverejnené v aktuálnom čísle Zdravotníckych listov ako full text (s. 33-37).

NOVÉ PERORÁLNE ANTIKOAGULANCIA - PREHĽAD A ICH LABORATÓRNE MONITOROVANIE

MÜLLEROVÁ D.

Oddelenie laboratórnej medicíny, AnalytX s.r.o., Trnava

V antikoagulačnej liečbe boli v minulých rokoch dosiahnuté významné pokroky. Poslednou novinkou sú nové perorálne antikoagulanty (NOAK), ku ktorým patria priame inhibítory trombínu a priame inhibítory aktivovaného faktora X.

V prezentácii uvádzam prehľad NOAK, možnosť laboratórneho monitorovania NOAK, ako aj vplyv NOAK na rôzne hemokoagulačné testy.

Kľúčové slová: Nové perorálne antikoagulanty. Laboratórne monitorovanie NOAK

ISOHELP – ELEKTRONICKÁ DOKUMENTÁCIA POMOC PRI AKREDITÁCIÁCH

MÜLLEROVÁ D.¹, NETRIOVÁ J.²

¹ BioG, Bratislava

² K&L Diagnostics, Bratislava

Na laboratóriách (kalibračné, skúšobné, medicínske) sú neustále kladené vyššie nároky na kvalitu práce a na jej garanciu. Pracovníci, ktorí chcú byť garantom kvalitnej práce, musia pracovať na základe prijatých uznávaných medzinárodných postupov (štandardov). Ich kompetentnosť má byť posudzovaná nezávislou inštitúciou v procese akreditácie. Akreditácia predstavuje pre dané pracovisko značné nároky hlavne na dokumentačné práce.

Program ISOHELP, ktorý Vám prezentujeme formou krátkeho videa, slúži na zrealizovanie administratívnej dokumentácie manažérstva kvality v zmysle medzinárodnej normy ISO v elektronickej forme. Je vhodný pre kalibračné, skúšobné aj medicínske laboratóriá. Program slúži ako komplexný zdroj dát pre potreby akreditačnej autority. Možno s ním pracovať kdekoľvek, nakoľko jeho prostredie je prístupné aj mobilným zariadeniam. Pre správny chod je nutné len pripojenie na internet a webový prehliadač. Informácie sú združené na jednom mieste, sú ľahko dostupné a dohľadateľné. Program je štruktúrovaný podľa normy. K dispozícii sú prehľadné hlásenia o prevádzke, činnostiach jednotlivých pracovníkov laboratória, vedení nezhodnej práce, ale aj nápravných a preventívnych opatreniach. Všetky osobné zložky pracovníkov s potrebnými dokumentami, možnosťou oboznamovania, zaškolenia a poverenia pracovníkov, sú k dispozícii na jednom mieste v elektronickej forme. V elektronickej forme možno viesť aj evidenciu každého merača a zariadenia s príslušnými technickými a validačnými dokumentami. Program umožňuje zhromažďovať údaje zbierané pri monitorovaní teploty prostredia alebo iných faktoroch ovplyvňujúcich laboratórny proces. Podľa potrieb laboratória možno vytvoriť rôzne kategórie interných a externých dokumentov, ktoré sú ľahko a okamžite dostupné na každom pracovnom mieste.

Kľúčové slová: Akreditácia. Norma. Dokumentácia. Elektronický záznam

EKOTOXIKOLÓGIA VO VEREJNOM ZDRAVOTNÍCTVE

NAGYOVÁ V.

Odbor objektivizácie faktorov životných podmienok, Úrad verejného zdravotníctva SR, Bratislava

Rozhodnutím Ministerstva zdravotníctva SR bolo 15.10.1996 v Úrade verejného zdravotníctva SR v Bratislave zriadené Národné referenčné centrum pre ekotoxikológiu. Ide o akreditované pracovisko s celoslovenskou pôsobnosťou, ktorého úlohou je výkon ekotoxikologických skúšok pre potreby verejného zdravotníctva. Podstatou ekotoxikologického vyšetrenia sú testy toxicity, ktoré slúžia k zisteniu alebo odhadu možného toxického vplyvu testovaných látok na živé organizmy. Ide o nešpecifické metódy, to znamená, že zachytávajú celkové toxické účinky všetkých látok prítomných v testovaných vzorkách bez informácie o ich zložení či chemickej štruktúre. Hlavnou výhodou testov toxicity je rýchle a dostatočne informatívne hodnotenie testovaných vzoriek, ktoré slúži ako signál k vykonaniu podrobnejších fyzikálno-chemických analýz.

Hlavnou úlohou NRC pre ekotoxikológiu vo vzťahu k znečisteniu zložiek životného prostredia a zdravotného stavu obyvateľstva je riešenie problematiky ekotoxikológie vôd. V rámci tejto činnosti sa pracovisko podieľa na monitorovaní kvality povrchových vôd a výskytu vodných kvetov na vodárenských nádržkách a prírodných rekreačných lokalitách s organizovanou a neorganizovanou rekreáciou v SR. NRC má zavedené testy na zisťovanie toxicity látok produkovaných cyanobaktériami a riasami, ktoré ohrozujú kvalitu vody a predstavujú vážne nebezpečenstvo pre živočíchy a obyvateľstvo.

NRC je jediným pracoviskom v rezorte zdravotníctva schopným vo vode vyšetrovať vybrané látky, ktoré možno považovať za biologické zbrane. V rámci pripravenosti na vznik mimoriadnej situácie, resp. pri podozrení na chemické ohrozenie zdrojov pitnej vody alebo zásobovacieho systému zabezpečuje ekotoxikologické skúšanie vzoriek vôd.

Pracovisko sa dlhodobo tiež zaoberá zvýšením zdravotnej bezpečnosti pitnej vody. V tejto súvislosti testuje použitie ekotoxikologických metód ako skriningového nástroja na detekciu prítomnosti chemických látok, tzv. vedľajších produktov dezinfekcie, ktoré môžu mať nežiaduce účinky na zdravie ľudí.

V súčasnosti NRC hľadá spôsoby použitia testov toxicity na zistenie prítomnosti kontaminácie ťažkými kovmi a toxínmi vo výživových doplnkoch na báze cyanobaktérií a rias. Okrem uvedenej činnosti NRC vykonáva metodickú, konzultačnú, legislatívnu, prednáškovú a publikačnú činnosť a spolupracuje s inými laboratórnymi a terénnymi pracoviskami verejného zdravotníctva. Prostredníctvom ekotoxikologického vyšetovania stavu zložiek životného prostredia pracovisko významne prispieva k ochrane životného prostredia a zdravia obyvateľstva.

Kľúčové slová: Národné referenčné centrum pre ekotoxikológiu. Ekotoxikológia. Životné prostredie

MESOPOROUS BIOACTIVE GLASSES AS A DRUG DELIVERY SYSTEM

NEŠČÁKOVÁ Z.¹, GALUSEK D.¹, BOCCACCINI A.²

¹ *FunGlass - Centre for Functional and Surface Functionalized Glass, Alexander Dubček University of Trenčín, Trenčín*

² *Institute of Biomaterials, Department of Materials Science and Engineering, University of Erlangen-Nuremberg*

Moreover, then 45 years, bioactive glasses (BG) have shown attractive properties for bone tissue regeneration applications because of their ability to bond to the bone,

safely dissolve in the body and stimulate bone repair. In the last decade, they have broadened their application possibilities into the area of soft tissue engineering and wounds healing. The original bioactive glass, Bioglass®, was prepared by melt-quenched [1]. Nowadays, the bioactive glasses could be prepared by low-temperature processing route, by sol-gel method. The sol-gel process allows to make BG based porous scaffolds, incorporate the drugs and growth factors and make hybrid polymer materials [2]. Discovery of mesoporous bioactive glasses (MBG) opened a new direction for developing multifunctional bioactive materials by applying nanotechnology in regenerative medicine [3]. The main feature of these SiO₂-based biomaterials is the presence of the highly ordered mesopore channel structure with a pore size in the range 5-20 nm. These network of pores makes from MBG the great carrier for delivery of drugs and therapeutic ions. MBG could deliver more of the therapeutic agents simultaneously, this fact makes from MBG multifunctional tool providing osteogenesis, angiogenesis and anti-bacterial activity [4]. Therapeutic ions such as Ag, Li, Sr, Zn, Cu, Co, Mg, Ce, Fe, etc. are usually involved in the glass framework and pores stay free and could be loaded with drugs or growth factors. In the case of very small (nanoscale) particles, they could enter a cell and can be used to carry therapeutic agents, for example, small drug molecules or genes, inside to the cells [2]. By the control of nanoporosity, the degradation rate of MBG and release of therapeutic agents can be guided. The sol-gel process is flexible and allows produce spherical particles, foams and fibres. MBG represent glasses with different properties and their future applications are very exciting.

Key words: Biomaterials. Sol-gel process. Mesoporous bioactive glass. Drug delivery system

Acknowledgement

This paper is a part of dissemination activities of project FunGlass. This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No 739566.

References

- [1] JONES, J.R. *Bio-Glasses: An Introduction*, Wiley, 2012, 29-43.
- [2] HENCH, L.L., POLAK, J.M. Third-generation biomedical materials. *Science*. 2002; 295: 1014-1017.
- [3] YAN, X., YU, C., ZHOU, X., et al. Highly ordered mesoporous bioactive glasses with superior *in vitro* bone-forming bioactivities. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2004; 43: 5980-5984.
- [4] WU, Ch., CHANG, J. Multifunctional mesoporous

bioactive glasses for effective delivery of therapeutic ions and drug/growth factors. *J Con Rel.* 2014; 193: 282-295.

VYUŽITIE FAKTOROVEJ ANALÝZY A ANALÝZY ZHLUKOV PRI VYŠETRENÍ VNÚTORŇÝCH SÚVISLOSTÍ ZÁPALOVÝCH MARKEROV

NETRIOVÁ J.¹, TÓTHOVÁ D.

¹*K&L Diagnostics, Bratislava*

Zápalové markery sa využívajú pri identifikácii systémového zápalu, sepsy a SIRS a významne korelujú s patologickým procesom. Perspektívnym markerom popri prokalcitonínu, CRP a i. je presepsín. Presepsín je špecifickým a prognostickým markerom pre sepsu, má schopnosť rozlíšiť stupeň závažnosti sepsy.

Faktorová analýza (FA) je viacrozmerná štatistická analýza, ktorej podstatou je rozbor štruktúry vzájomných závislostí premenných. Vo FA sa vysvetľuje vzájomná lineárna závislosť pozorovaných premenných existenciu menšieho počtu nepozorovateľných faktorov nazývaných spoločnými faktormi (common factor) a ďalších zdrojov variability nazývaných chybovými alebo špecifickými faktormi. Predmetom záujmu sú predovšetkým spoločné faktory.

Zhluková analýza (Cluster analysis, CA) sa zaoberá podobnosťou viacrozmerných objektov a ich klasifikáciou do zhlukov. Zhluk je skupina objektov, ktorého vzdialenosť (nepodobnosť) je menšia ako vzdialenosť, ktorú majú objekty nepatriace do zhluku. CA možno využiť tak, že uvažované premenné zastúpi jediná premenná vyjadrujúca príslušnosť k takto definovanému zhluku.

Cieľom FA vo vzťahu k spomínaným zápalovým markerom a stanovenými krvnými elementami bolo vyšetriť vnútorné súvislosti medzi biochemickými markermi a počtom krvných elementov, identifikovať spoločné faktory tým, že veľký počet pôvodných znakov (markerov) povedie k menšiemu počtu tzv. latentných premenných (faktorov). Prieskumovou analýzou sa vyšetril súbor 75 pacientov a odhalila sa premenlivosť znakov a ich väzieb pomocou grafov. Najväčšiu premenlivosť znakov vykazoval presepsín, CRP a PCT. Interpretácia výsledkov FA v sebe zahŕňa kroky, ktorými dôjde k výberu konečného faktorového riešenia – zostrojene faktorovej matice, rotácia faktorov a úpravu modelu. Pri analýze faktorov pomocou rotácie faktorov a bez rotácie sa odhalil prvý faktor, ktorý v sebe zahŕňa krvné elementy súvisiace s odozvou na zápal – neutrofilové elementy v diferenciálnom a absolútnom počte a leukocyty. V druhom faktore boli obsiahnuté lymfocyty v absolútnom množstve a prokalcitonín. Komunalita predstavuje podiel premenlivosti znaku, vyjadreného príslušným faktormi.

Najvyššie hodnoty komunality vykazovali krvné elementy. Z prevedenia všetkých krokov FA vyplýva, že premenlivosť znakov možno vyjadriť pomocou dvoch faktorov a popisujú ju na 73,17 %. Prvý faktor v sebe zahŕňa 4 znaky – krvné elementy neutrofilové v absolútnom a diferenciálnom počte, leukocyty a lymfocyty, druhý faktor obsahuje v sebe absolútny počet lymfocytov a mierne koreluje s prokalcitonínom. Silná korelácia sa preukázala medzi presepsínom a prokalcitonínom spolu s leukocytmi a absolútnym počtom neutrofilov. FA sa doplnila o analýzu zhlukov. Dendrogramy potvrdzujú výsledky FA a to koreláciu zápalových markerov s leukocytmi a absolútnym počtom neutrofilov. Zápalové markery sa v dendrogramoch členia na dve skupiny – presepsín a dvojicu CRP-prokalcitonín.

Kľúčové slová: Presepsín. Prokalcitonín. Faktorová analýza. Analýza zhlukov

VÝSKYT A PROBLEMATIKA INFEKCIÍ SPOSOBENÝCH *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* NA SLOVENSKU

NOVÁK M.^{1,2}, MAZÁKOVÁ I.², ČERVEŇOVÁ T.², HUDEČKOVÁ H.^{1,2}

¹*Ústav verejného zdravotníctva, JLF UK, Martin*

²*Oddelenie epidemiológie, Regionálny úrad verejného zdravotníctva, Martin*

Úvod: V súčasnosti sa dostávajú do popredia medicínskeho záujmu klostrídiové infekcie čreva (CDI) kvôli ich narastajúcemu výskytu. Zníženie nešpecifickej imunity pacientov a ich liečba širokospektrálnymi antibiotikami vytvárajú vhodné podmienky pre vznik zdravotne závažných CDI enterokolitíd, ktoré môžu mať charakter komunitnej alebo nozokomialnej nákazy. Predovšetkým sú postihnutí geriatrickí, polymorbídni a opakovane hospitalizovaní pacienti, ktorí boli liečení širokospektrálnymi antibiotikami. Naším cieľom bolo zistiť za sledované obdobie trend ich incidencie na Slovensku a definovať rizikové skupiny pacientov z hľadiska veku a oddelenia, kde boli hospitalizovaní.

Materiál a metódy: Súbor tvorili hospitalizovaní pacienti v okrese Martin a na Slovensku s enterokolitídou vyvolanou *Clostridium difficile*, ktoré boli hlásené do EPIS SR. Retrospektívne sme analyzovali údaje, ktorých zber prebiehal od 1.1.2010 do 31.12.2017. Pre výpočet celkovej a vekovo-specifickej incidencie sme použili údaje štatistického úradu SR a Národného centra štatistických informácií Slovenskej republiky – Zdravotnícke ročenky za roky 2010 až 2016.

Výsledky: Analýza poukázala na výrazný vzostup incidencie CDI v priebehu rokoch 2010 až 2017. Od roku 2010 do roku 2017 narástla z 0,86 na 20,6/10 000

hospitalizovaných pacientov. Narastala aj incidencia nozokomiálnych CDI (CDI-NN), z 0,6 na 15,3/10 000.

V období rokov 2010 až 2017 bolo najviac CDI hlásených z Bratislavského kraja (24,9 %). Na druhom mieste bol Žilinský kraj (18,7 %). Najmenej hlásených CDI bolo z Banskobystrického kraja (5,6 %)

Ochorenia mali najmä nozokomiálny charakter, podiel nozokomiálnych prípadov CDI na Slovensku sa v období rokov 2010-2017 pohyboval približne medzi 70-75 %. Od roku 2013 *Clostridium difficile* patrí medzi piatich najčastejších pôvodcov nozokomiálnych nákaz na Slovensku. V roku 2017 sa najčastejším pôvodcom a bolo príčinou 17,3 % všetkých nozokomiálnych nákaz.

Najviac nozokomiálnych prípadov CDI na Slovensku (88,5 %) bolo v roku 2017 hlásených z internistických pracovísk, 7,4 % prípadov CDI-NN sa vyskytovalo na chirurgických pracoviskách, 2,8 % na anesteziologicko-resuscitačných pracoviskách a 1,1 % na detských pracoviskách.

Vekové rozdelenie hlásených prípadov s CDI na Slovensku v rokoch 2010 až 2017 ukazuje, že riziko infekcie stúpa s vekom, pričom dôchodcovia predstavujú najväčšiu rizikovú skupinu, nasledované malými deťmi. Incidencia pacientov vekovej skupiny 65 a viac ročných bola 9,8 na 10 000 obyvateľov na Slovensku. Incidencia u detí do 1 roka na Slovensku bola 2,6 na 10 000 obyvateľov. Priemerný vek pacientov s CDI bol v sledovanom období 68,6 rokov.

Záver: Zistili sme, že celosvetový problém narastanie prípadov CDI sa týka aj Slovenska. Pričom prípady s nozokomiálnym charakterom každoročne narastajú a zvyšuje sa aj pomer nozokomiálnych a komunitných CDI. Potrebne je aj naďalej sledovať vývoj na národnej a lokálnej úrovni, a striktne dodržiavať opatrenia na predchádzanie ďalšieho šírenia CDI. Významne môže situáciu ovplyvniť racionálna antibiotická liečba a špeciálny režim ošetrovania nakazených pacientov. Správne realizovaná surveillance CDI tak umožní predísť takýmto ochoreniam predovšetkým v rizikovej skupine obyvateľstva.

Kľúčové slová: Nozokomiálne nákazy. *Clostridium difficile*. Surveillance

MOLEKULÁRNO-BIOLOGICKÁ ANALÝZA KLINICKÝCH KMEŇOV STREPTOCOCCUS AGALACTIAE

PAZDERKA L.^{1,2}, LICHVARIKOVÁ A.³,
DRAHOVSKÁ H.³

¹ *Katedra laboratórných vyšetrovacích metód v zdravotníctve, Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnavská univerzita v Trnave, Trnava*

² *Centrum mikrobiológie a prevencie infekcií, Trnavská Univerzita v Trnave, Trnava*

³ *Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava*

Streptococcus agalactiae patrí medzi streptokoky Lancefieldovej skupiny B (GBS) a je to oportunistický patogén, ktorý kolonizuje gastrointestinálny a urogenitálny trakt ľudí. Je zodpovedný hlavne za ochorenia u novorodencov, tehotných žien a dospelých imunosuprimovaných ľudí. V našej práci sme vytvorili zbierku 77 klinických kmeňov *S. agalactiae*. Kmene sme charakterizovali pomocou viacerých molekulárno-biologických metód. Na základe výsledkov PCR sérotypizácie sme zistili, že najviac zastúpeným bol sérotyp V (53,5 %) a ďalšími často sa vyskytujúcimi boli sérotypy III a Ia. V každom kmeni sme určili typ povrchového proteínu, pričom sme pozorovali asociáciu povrchových proteínov s určitými sérotypmi, predovšetkým prítomnosť povrchového proteínu Alp2/3 u kmeňov sérotypu V a proteínu Rib v kmeňoch sérotypu III. Vzájomnú príbuznosť 48 kmeňov GBS sme stanovili sekvenovaním troch lokusov (*adhP*, *pheS*, *atr*) zo sedemgénovej schémy multilokusovej sekvenáčnej typizácie (MLST). Zistili sme, že až 22 z týchto kmeňov má rovnakú kombináciu alieli 1-1-2, tieto kmene patrili k sérotypu V s povrchovým proteínom Alp2/3. V ďalšej časti práce sme stanovili prevalenciu kmeňov *S. agalactiae* vo vzorkách moču a výterov z hrdla a zistili sme pozitivitu u 1,3 % vzoriek. Päť vybraných kmeňov *S. agalactiae* zo zbierky klinických izolátov sme charakterizovali pomocou celogenómového sekvenovania. Zistili sme, že dva kmene *S. agalactiae* zaradené do sérotypu V (KMB-533 a KMB-562) sú navzájom veľmi podobné. Dva kmene sérotypu III (KMB-548 a KMB-562) boli menej príbuzné a kmeň *S. agalactiae* KMB-572 zaradený do sérotypu VII mal najodlišnejší genóm zo všetkých sekvenovaných kmeňov. Bioinformatickou analýzou sme u kmeňov *S. agalactiae* identifikovali deväť génov kódujúcich rezistenciu voči antibiotikám: *erm(A)*, *erm(B)*, *tet(M)*, *tet(O)*, *ant(6)-Ia*, *aadE*, *sat4A*, *aph(3')* III a gén *cat*. V genómoch sme vyhledali profágy, v každom genóme sme našli 3-4 profágové oblasti, ktoré sme na základe vzájomnej homológie rozdelili do deviatich skupín. V profágových oblastiach sme našli sedem potenciálnych endolýzínov, ktoré by mohli byť v budúcnosti využité ako alternatívna liečba s účinkom voči kmeňom GBS.

Kľúčové slová: *Streptococcus agalactiae*. Prevalenčná štúdia. Celogenómové sekvenovanie. Profágy. Endolýziny

BARTONELÓZA – EPIDEMIOLOGIA A MOŽNOSTI LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKY

PETRÍKOVÁ K., BEDNÁROVÁ V., LOGOIDA M.,
HALÁNOVÁ M.

Ústav epidemiológie, Lekárska fakulta, Univerzita Pavla
Jozefa Šafárika v Košiciach, Košice

Bartonella spp. sú hemotropické, gramnegatívne baktérie, ktoré sú prevažne prenášané vektormi. Bartonella spp. sa zvyčajne vyskytujú v dvoch špecifických prostrediach, v čreve článkonožca, kde sú vystavené toxickým koncentráciám hemu a v krvnom obehú cicavčieho hostiteľa s nedostatočným prístupom k hemu a železu. Druhy Bartonella majú jediný kruhový chromozóm, ktorého veľkosť je v rozmedzí rozmerov od 1,45 Mbp u *B. bacilliformis* až po 2,64 Mbp u *B. tribocorum*.

Druhy Bartonella boli izolované alebo detegované u mnohých druhov živočíchov, vrátane suchozemských zvierat, hľadavcov, netopierov a morských živočíchov. Existuje niekoľko príkladov, ktoré dokumentujú vývoj rôznych druhov Bartonella s ich cicavčími hostiteľmi. Patrí sem *B. henselae* s mačkami, *B. vinsonii* so psami, *B. bovis* u kráv, *B. melophagi* u oviec a *B. australis* s klokanmi v Austrálii. Avšak zoznam druhov Bartonella prispôbených hľadavcom rastie exponenciálne. V poslednej dobe boli netopiere identifikované ako rezervoáre rôznych druhov Bartonella.

Prenos druhov Bartonella môže byť prostredníctvom článkonožcov alebo inokuláciou v závislosti od druhov. V prípade *B. bacilliformis* výskyt ochorenia kopíruje geografické hranice, ktoré sú obmedzené distribúciou jeho vektora – komára (*Lutzomyia verrucarum*), na 1 až 3 km nadmorskej výšky v Andách v Peru. *B. henselae* sa vyskytuje endemicky na celom svete a prenos na ľudí mačkami je potvrdený tak sérologickými ako aj epidemiologickými štúdiami. Zdravé mačky bakteremické s *B. henselae* sú spojené s bacilárnou angiomatózou a s CSD (cat scratch disease). Na rozdiel od *B. bacilliformis* má *B. quintana* celosvetovú distribúciu často spojenú s vojnovými zónami a slabou hygienou, s čím súvisí predispozícia k zamoreniu ľudskou všou (*Pediculus humanus*), jediným známym vektorom prenosu.

Sérologické testovanie je najrozšírenejšou metódou na diagnostiku Bartonelovej infekcie. Nepriama imuno fluorescencia je referenčnou metódou. Druhy Bartonella môžu byť detegované z krvi a tkanív pomocou PCR. Môžu sa použiť rôzne tkanivá, vrátane lymfatických uzlín, srdcovej chlopne, kože a pečene. Hoci čerstvé tkanivá sú vhodnejšie, PCR môžeme použiť aj na formalínom fixované parafínové tkanivá. *B. quintana* môže byť detegovaná v erytrocytoch pomocou imuno fluorescencie. Baktérie sú pozorované v tenkých krvných škvrnách z čerstvej krvi fixovaných metanolom a zafarbených myšacou monoklonálnou protilátkou.

Intraerytytické umiestnenie *B. quintana* môže byť potvrdené použitím konfokálnej mikroskopie.

Na Slovensku chýbajú údaje a informácie o výskyte bartonelových infekcií, preto cieľom našej štúdie bolo zistiť výskyt protilátok IgM proti *B. henselae* a *B. quintana* u ľudí na východnom Slovensku. Pacienti v štúdiu mali 18 a 55 rokov. Bolo vyšetrených celkom 214 vzoriek séra. Na detekciu protilátok Bartonella sme použili test IFA. IgM protilátky proti *B. henselae* boli zistené v 72 vzorkách, ktoré predstavujú 33,6% pozitivitu. IgM protilátky *B. quintana* boli detegované v 68 vzorkách, čo predstavuje 31,8% pozitivitu.

Kľúčové slová: Epidemiológia. Laboratórna diagnostika. *B. henselae*. *B. quintana*

Podakovanie

Práca vznikla v súvislosti s riešením grantovej úlohy APVV-15-0134 a VEGA MŠVVaŠ SR č. 1/0084/18.

TELEMEDICÍNA NA SLOVENSKU JE V ROKU 2018 REALITOU

PRPIČ I.

BSC Medical, Trenčín

Pacient vo vlastnom sociálnom prostredí sám vykonáva merania, ktoré mu vzhľadom k jeho diagnóze odporučí lekár. Meranie sa vykonáva na, k tomuto účelu prispôbených zdravotných prístrojoch. Hodnoty sú pomocou bluetooth technológie prenášané do HUBu, odkiaľ sú privátnou zabezpečenou sieťou odosielané do Dohľadového centra. Namerané dáta sú kontinuálne spracované a zobrazované v karte pacienta. Pomocou vzdialeného prístupu sú lekárom k dispozícii v reálnom čase. SW riešenie NDC vyhodnocuje stavy a parametre meraní. Pri dosiahnutí hodnôt a trendov, ktoré sú lekárom nastavené ako limitné, systém vyvolá alarm. Asistentky NDC okamžite riešia identifikované incidenty a poskytujú asistenciu ako pacientom tak aj lekárom v režime 24/7. Riešenie umožňuje jednoduchú komunikáciu medzi lekárom a pacientom.

Spôsoby merania: Kontinuálne; Opakovane; Náhodne.

Statické: V domácom prostredí; Na štandardnom lôžku v nemocnici; Na lôžku v ústave sociálnej starostlivosti.

Mobilné: Meranie môže prebiehať kdekoľvek.

Upozornenia: Nastavenie hraničných a kritických hodnôt; Nastavenie počtu opakovaní pred upozornením; Nastavenie typu upozornení.

Alarm: Nastavenie hraničných hodnôt; Nastavenie typu upozornení – SMS notifikácia, mail.

Výstup: reporty z meraní na pravidelnej báze vo forme PDF.

Výhody vzdialeného monitoringu pre lekára: Zníženie počtu ambulantných návštev; možnosť online upravovať liečbu na základe vývoja stavu pacienta; jednoduchá komunikácia lekár – pacient prostredníctvom NDC; príprava reportov a histórie monitoringu pred kontrolou a vyšetrením pacienta; získanie väčšieho počtu informácií a dát na zlepšenie diagnostiky; možnosť zdieľania výsledkov monitoringu viacerými lekármi (rôzne odbornosti); zníženie personálnej náročnosti; prínos aplikácie telemedicínskych postupov pri chronických ochoreniach z pohľadu vývoja stavu pacienta v domácom prostredí.

Výhody vzdialeného monitoringu pre pacienta: Monitoring vo vlastnom sociálnom prostredí pacienta, jednoduché ovládanie prístrojov; Zníženie počtu návštev ambulancií – zníženie počtu dní hospitalizácie, doliečovanie v domácom prostredí; Prevencia hospitalizmov; Lepšia komunikácia s lekárom; Zvýšenie disciplíny liečby pacienta; Úprava medikácie bez potreby návštevy u lekára; Pocit bezpečia; Zníženie rizika nozokomiálnych nákaz.

Aplikácia v praxi: spätná väzba od klientov; postrehy a podnety.

Kľúčové slová: Dohľadové centrum. Privátna zabezpečená sieť. Vzdialený monitoring

PREHEAD PÔVODCOV SALMONELOVÝCH INFEKCIÍ VO FAKULTNEJ NEMOCNICI TRENČÍN V ROKOCH 2014-2018

PUTALOVÁ M.

Oddelenie klinickej biochémie, hematológie a mikrobiológie, Fakultná nemocnica Trenčín

Salmonely sú primárnymi črevnými patogénmi človeka, spôsobujúce infekčnú hnačku. Vo výnimočnejších prípadoch zapríčiňujú sepsu, meningitídu, osteomyelitídu, artritídu. Nákaza pochádza najčastejšie z kuracieho mäsa a vajec. Inkubačná doba je 12 hodín až 5 dní. Charakteristickými prejavmi infekcie sú hnačky, vracanie, horúčka. Liečba spočíva v rehydratácii, realimentácii, antibiotická liečba sa v nekomplikovaných prípadoch neodporúča vzhľadom na predĺženie doby vylučovania salmonel z organizmu. V komplikovaných prípadoch sa podávajú cefalosporíny 3. generácie, alternatívnu voľbu sú fluorochinolóny. V prevencii infekcie sú významné bežné hygienické pravidlá. Najfekventovanejšie potvrdeným pôvodcom infekcií je *Salmonella enteritidis*, druhým najčastejším je *Salmonella Tiphimurium*. V práci je uvedený prehľad všetkých zachytených Salmonel vo FN Trenčín v rokoch 2014-2018.

Kľúčové slová: Infekčná hnačka. Kuracie mäso a vajcia. *Salmonella enteritidis*

NOVÉ TRENDY V MOLEKULOVEJ DIAGNOSTIKE ENDOMETRIÓZY

RABAJDOVÁ M.¹, URBAN P.¹, URDZIK P.², MAREKOVÁ M.¹

¹ Ústav lekárskej a klinickej biochémie, Lekárska fakulta, UPJŠ v Košiciach

² Gynekologicko-pôrodná klinika, Lekárska fakulta, UPJŠ v Košiciach a UNLP Košice

Úvod: Endometrióza je estrogén dependentné gynekologické ochorenie, charakterizované implantáciou a úspešnou adaptáciou endometriálneho tkaniva mimo oblastí malej panvy. Incidencia sa u žien v reprodukčnom veku (t.j. medzi 20. a 40. rokom života) pohybuje v rozmedzí 7-10 %. Táto prekanceróza môže komplikovať fertilitu, avšak v mnohých prípadoch spôsobuje infertilitu, keďže je diagnostikovaná až v 50 % neplodných žien. Klinický obraz endometriózy je značne diverzifikovaný, niekedy asymptomatický, ale u niektorých žien je veľmi dramaticky, sprevádzaný bolesťou počas menštruácie a panvovou bolesťou. Príčína endometriózy je stále nejasná. Nedávne vedecké práce poukazujú na zásadný vplyv pro a antiangiogénnych faktorov, ktoré zohrávajú dôležitú úlohu pri vzniku a priebehu endometriózy. Medzi takéto faktory zaraďujeme aj nekódujúce miRNA molekuly, ktoré v procese post-transkripčnej regulácie génovej expresie ovplyvňujú angiogénne faktory. Vaskulárny endotelový faktor (VEGF) a placentárny rastový faktor (PIGF) patria do skupiny pro-angiogénnych faktorov. Skupina antiangiogénnych markerov zahŕňa rozpustné napríklad proteíny: FMS-podobnú tyrozínkinázu 1 (sFlt-1) a endoglin (sEng). Doposiaľ neexistuje spoľahlivý biomarker vývoja a progresie endometriózy zo séra pacienta, a preto je použitie moderných molekulových metód pri štúdiu tohto ochorenia nielen jednou z možných, ale predovšetkým perspektívnych ciest.

Ciele: Cieľom štúdia bola detekcia zmien expresie hladín mRNA špecifických pro/anti angiogénnych faktorov v krvi žien v rôznych štádiách endometriózy v porovnaní s kontrolnou skupinou. Rovnako bola u daných pacientok analyzovaná prítomnosť miRNA molekúl. Následne boli výsledky korelované s ich klinickým obrazom.

Metódy: Experimentálna skupina pozostávala z pacientok trpiacich „frozen pelvis“ (FP), endometriózou sacrouterinných ligament (ESUL) a peritoneálnou endometriózou (PE). Expresia jednotlivých génov bola detegovaná využitím qRT-PCR a chromatinovej imunoprecipitačnej analýzy (ChIP). Analýza miRNA bola uskutočnená po predchádzajúcej profilácii miRNA molekúl

pomocou miSeq sekvenovania a následná validácia jednotlivých miRNA bola uskutočnená pomocou miRqRT-PCR metódy.

Výsledky: Expresia mRNA génu pre endoglin bola o 273 % vyššia u pacientok s diagnostikovanou FP a o 126 % vyššia u pacientok s PE oproti kontrolnej skupine. Ďalej bolo detegované významné zvýšenie hladín mRNA Flt-1 génu u žien s ESUL v porovnaní s kontrolnou skupinou. Analýza miRNA potvrdila prítomnosť špecifických miRNA molekúl u pacientok s histopatologicky potvrdenou endometriózou.

Záver: Využitie nových molekulových metód pri hľadaní špecifických biomarkerov je stále aktuálne. Implementácia molekulových metód prispieva k skvalitneniu laboratórnej diagnostiky a posúva ju smerom k personalizovanej medicíne.

Kľúčové slová: Endometrióza. Diagnostické biomarkery. Chip-PCR. miRNA

Pod'akovanie:

Práca vznikla pri riešení projektu VEGA 1/0873/16.

PREVALENCIA DYSLIPIDÉMIE U SLE PACIENTOV

RAPANTOVÁ L.^{1,2}, SITKO J.^{2,3}, BLAŽIČKOVÁ S.^{2,3}

¹ *Národný ústav reumatických chorôb, Piešťany*

² *Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnavská univerzita, Trnava*

³ *Laboratóriá Piešťany s.r.o., Piešťany*

Kardiovaskulárne ochorenia (KVCH) patria k hlavným príčinám morbiditu a mortality pacientov so systémovým *lupus erythematosus* (SLE). Potreba zlepšenia miery prežitia pacientov viedla k definovaniu príčiny ochorenia koronárnych artérií u týchto pacientov. Viaceré kohortové štúdie naznačili, že zrýchlená ateroskleróza súvisí s tradičnými rizikovými faktormi, akými sú hypertenzia a hyperlipidémia. U dospelých pacientov so SLE sa dyslipoproteinémia vyskytuje v rozmedzí 30-73 %. Aj keď sú identifikované rizikové faktory KVCH, patofyziologický mechanizmus nie je úplne objasnený a chýba i súvislosť medzi aktivitou SLE a aterosklerózou. Existujú podobné črty v patogenézach oboch chorôb. Spoločným menovateľ je chronický zápal – úloha prozápalových cytokínov. Cirkulujúce hladiny TNF alfa sú zvýšené u pacientov so SLE a taktiež sú asociované s prítomnosťou kalcifikátov v koronárnych cievach [1], vyššími triglyceridmi, nízkymi hladinami LDL [2]. Vysoké hladiny IL-17 sú produkované infiltrovanými T-bunkami v koronárnych cievach spolu s IFN gama, ktorých vysoká hladina je takisto zistená aj u aktívnych SLE [3, 4]. Ako proaterogénne cytokíny sú

považované IL-12 a IL-18, ale ich úloha pri SLE nebola sledovaná. SLE je B-bunkové ochorenie s typickou produkciou autoprotilátok, kým u aterosklerózy je popísaný iba proaterogénny efekt antioxi-LDL, dokázaný v imunokomplexoch AS plakoch [5]. Pre možnosť vplyvu netradičných biomarkerov na riziko zvýšenia frekvencie aterosklerózy, progresie poškodenia a zvýšeného rizika KVCH u pacientov SLE a ich možného využitia na lepšie predpovedanie progresie aterosklerózy sa v rôznych štúdiách sledovali markery: hladina leptínu, hladina sTWERK, vysoko denzitný lipoproteín (piHDL), prítomnosť diabetes mellitus a hladina homocysteínu. Žiadna jednotlivá premenná nepreukázala ideálnu kombináciu dobrých negatívnych prediktívnych hodnôt, pozitívnych prediktívnych hodnôt, citlivosti a špecifickosti. Ako vysoko rizikový prediktívny profil pre pacienta boli 3 a viac pozitívnych sledovaných biomarkerov alebo ≥ 1 pozitívny biomarker plus anamnéza diabetu. Pacienti so SLE s vysoko rizikovým profilom majú 28-násobne zvýšené šance na prítomnosť plaku a zvýšenú progresiu hrúbky intima media. Súvislosť medzi aktivitou SLE a aterosklerózou nie je úplne objasnená. Do popredia lipidového metabolizmu v spojení s rizikom aterosklerózy sa dostávajú nové molekuly ako napr. Lp-PLA2, FABP4, Apo E, malé denzné LDL (sLDL), NEFA FS (non-esterified fatty acids), ktorých hladiny neboli u pacientov so SLE doteraz sledované. Cieľom našej pilotnej štúdie bolo určenie prevalence dyslipoproteinémií u SLE pacientov. Zistili sme, že v skupine 44 pacientov (38 žien a 6 mužov) boli hodnoty cholesterolu zvýšené u 19 pacientov (43 %). Priemerné hodnoty cholesterolu v sledovanej skupine boli 4,78 mmol/l u žien a 5,84 mmol/l u mužov. Hypercholesterolémia sa vyskytovala u 38 % žien a 83 % mužských pacientov. Hodnoty triglyceridov boli zvýšené u 3 žien (7,9 %), pričom priemerná hodnota triglyceridov celého súboru bola 1,42 mmol/l. Zo sledovaných hladín LDL, ApoA, ApoB a Lp(a) sme pozorovali významné zvýšenie ApoB s prevalenciou 21 % u ženského pohlavia a 33 % u mužov. Kontrola hladín parametrov lipidového metabolizmu môže byť užitočná v liečebných stratégiách a môže priaznivo ovplyvniť prežitie pacientov.

Kľúčové slová: Dyslipoproteinémia. Ateroskleróza. SLE

Pod'akovanie

Práca podporená v rámci projektu VEGA 1/0244/17.

Literatúra

- [1] RHO, Y.H., CHUNG, C.P., OESER, A., et al. Novel cardiovascular risk factors in premature coronary atherosclerosis associated with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2008; 35: 1789-1794.
- [2] SVENUNGSSON, E., FEI, G.Z., JENSEN-URSTAD, K., et al. TNF-alpha: a link between hypertriglyceridemia and inflammation in SLE patients

with cardiovascular disease. *Lupus*. 2003; 12: 454-461.

- [3] WONG, C.K., LIT, L.C.W., TAM, L.S., et al. Hyperproduction of IL-23 and IL-17 in patients with systemic lupus erythematosus: implications for Th17-mediated inflammation in auto-immunity. *Clin Immunol*. 2008; 127: 385-393.
- [4] EID, R.E., RAO, D.A., ZHOU, J., et al. Interleukin-17 and interferon-gamma are produced concomitantly by human coronary artery-infiltrating T cells and act synergistically on vascular smooth muscle cells. *Circulation*. 2009; 119: 1424-1443.
- [5] CALIGIURI, G., NICOLETTI, A., POIRIER, B., et al. Protective immunity against atherosclerosis carried by B cells of hypercholesterolemic mice. *J Clin Invest*. 2002; 109: 745-753.

LABORATÓRNA ČINNOSŤ VO VEREJNOM ZDRAVOTNÍCTVE

SIROTNÁ Z.

Odbor objektivizácie faktorov životných podmienok, Úrad verejného zdravotníctva SR, Bratislava

Laboratórne zložky vo verejnom zdravotníctve sú zriadené v Úrade verejného zdravotníctva Slovenskej republiky a v desiatich Regionálnych úradoch verejného zdravotníctva v Slovenskej republike (RÚVZ v SR). Laboratórne činnosti zabezpečujú analýzy a merania vo vednom odbore lekárska mikrobiológia, chemické analýzy, mikrobiológia životného prostredia, biológia životného prostredia, fyzikálne faktory a v odbore ionizujúce žiarenie.

Vo verejnom zdravotníctve je zriadených 41 národných referenčných centier (NRC) podľa Zákona č. 355 o ochrane, podpore a rozvoji verejného zdravia a o zmene a doplnení niektorých zákonov z 21. júna 2007. Z uvedeného počtu nie je len päť NRC laboratórneho charakteru. V NRC a laboratóriách pracujú pracovníci širokého odborného zamerania.

NRC sú metodickým a odborným garantom, ktoré v oblasti svojho pôsobenia usmerňujú a koordinujú spolupracujúce pracoviská v RÚVZ v SR pri plnení celoštátnych aj medzinárodných programov v ochrane a podpore zdravia. Ich hlavnou činnosťou je účasť v medzinárodných sieťach národných laboratórií v danej problematike, špecializovaná nastavbová diagnostika, zabezpečovanie externej kontroly pre spolupracujúce laboratóriá, poskytovanie odborných informácií, konzultácií a odborné zastrešovanie školiacich akcií a výuková činnosť. Poslaním NRC je zavádzanie a aplikácia nových progresívnych metód do laboratórnej praxe v zmysle diagnostických štandardov odporúčaných ECDC, WHO, EFSA a nadriadených európskych referenčných centier,

čím prispievajú ku zvyšovaniu kvality preventívnych programov verejného zdravotníctva v SR.

Laboratórne pracoviská a NRC vo verejnom zdravotníctve sú akreditované Slovenskou národnou akreditačnou službou a majú osvedčenie o akreditácii podľa ISO/IEC 17 025.

Kľúčové slová: Laboratórne pracoviská. Národné referenčné centrá. Medzinárodné siete národných laboratórií

KONTROLA KVALITY MATERSKÉHO MLIEKA V ROKOCH 2013–2017

SIROTNÁ Z.¹, GIČOVÁ A.¹, KOTVASOVÁ B.¹, VRŠANSKÁ S.², ŽEMBERYOVÁ Z.², PÍŠ L.³, LOŠONSKÁ V.³

¹ *Národné referenčné centrum pre mikrobiológiu životného prostredia, Úrad verejného zdravotníctva Slovenskej republiky, Bratislava*

² *Špecializované laboratórium chémie potravín, Úrad verejného zdravotníctva Slovenskej republiky, Bratislava*

² *Špecializované laboratórium atómovej absorpčnej spektrometrie, Úrad verejného zdravotníctva Slovenskej republiky, Bratislava*

³ *Odbor objektivizácie faktorov životných podmienok, Úrad verejného zdravotníctva Slovenskej republiky, Bratislava*

Úrad verejného zdravotníctva Slovenskej republiky dlhodobo sleduje kvalitu materského mlieka zbieraného od daryň a upravovaného v bankách ženského mlieka – v laktáriách. Zber údajov o kvalite materského mlieka sa datuje nepretržite od roku 2000.

Predmetom monitoringu v rámci programov a projektov úradov verejného zdravotníctva je cieľná mikrobiologická a chemická kontrola materského mlieka z laktária Národného ústavu detských chorôb v Bratislave.

Úloha je zameraná na sledovanie kvality nepasterizovaného mlieka ako odozvy na zdravotný stav matky a spôsob manipulácie s mliekom, sledovanie účinnosti tepelnej úpravy materského mlieka, kontrolou mikrobiologickej kvality pasterizovaného mlieka, sledovanie nutričnej kvality nepasterizovaného materského mlieka monitorovaním biopozitívnych látok a na zisťovanie obsahu chemických kontaminantov, t.j. bionegatívnych látok v mlieku ako odozvy na životné prostredie matiek.

Práca sumarizuje výsledky monitoringu rokov 2013–2018. Z chemických ukazovateľov bola stanovená sušina, tuk, bielkoviny, sacharidy, vápnik meď a železo a hodnoty boli porovnávané s minimálnymi a maximálnymi hodnotami uvedenými v Potravinových tabuľkách [1]. Namerané hodnoty kontaminantov, ťažkých kovov – kadmia, olova, ortuti boli porovnávané s hodnotami uvedenými v Nariadení Komisie pre obsah kontaminantov

v potravinách (počiatočnej dojčenskej výžive) č. 1881/2006 v znení neskorších predpisov.

Požiadavky na mikrobiologickú kvalitu pasterizovaného materského mlieka upravuje Výnos Ministerstva pôdohospodárstva SR a Ministerstva zdravotníctva SR z roku 2006 č. 06267/2006-SL, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu SR upravujúca mikrobiologické požiadavky na potraviny a na obaly na ich balenie v kategórii „potraviny na výživu dojčiat a malých detí“. Materské mlieko bolo analyzované akreditovanými metódami v ukazovateľoch: celkový počet mikroorganizmov, počet koliformných baktérií, počet *Staphylococcus aureus* a koagulázopozitívnych stafylokokov a na prítomnosť stafylokokového enterotoxínu. Zároveň bola identifikovaná prítomnosť sprievodnej mikroflóry s dôrazom na sledovanie prítomnosti patogénnych a podmienene patogénnych mikroorganizmov.

Úlohou kontroly materského mlieka je systematický zber údajov o kvalite materského mlieka s cieľom ujednotiť výber sledovaných ukazovateľov a získať komplexný obraz o kvalite materského mlieka zbieraného a udržiavaného v banke ženského mlieka v širšom časovom období. Vzhľadom na závažnosť problematiky a pre komplexnosť a kontinualitu údajov sa v analýzach materského mlieka bude v rámci programov a projektov verejného zdravotníctva pokračovať aj v nasledujúcich rokoch.

Kľúčové slová: Materské mlieko. Banka ženského mlieka. Biopozitívne a bionegatívne látky. Mikrobiologická kvalita

Literatúra

[1] Potravinové tabuľky, on-line dostupné na <http://www.vup.sk/index.php?mainID=3&navID=34>

MIKROBIOLÓGIA ŽIVOTNÉHO PROSTREDIA VO VEREJNOM ZDRAVOTNÍCTVE

SIROTNÁ Z., GIČOVÁ A.

Odbor objektivizácie faktorov životných podmienok, Úrad verejného zdravotníctva SR, Bratislava

Laboratória mikrobiológie životného prostredia (MŽP) zriadené v Úrade verejného zdravotníctva a v jedenástich Regionálnych úradoch verejného zdravotníctva v Slovenskej republike (ÚVZ SR a RÚVZ v SR) zabezpečujú mikrobiologické analýzy v súlade s potrebami štátneho zdravotného dozoru a úradnej kontroly potravín. Úlohou týchto špecializovaných pracovísk je:

- monitorovať zložky životného prostredia mikrobiologickými metódami, osobitne v problematike hygieny vody, pôdy (vrátane pieskovísk), ovzdušia a prostredia,

- vykonávať mikrobiologické skúšky potravín, kozmetiky a predmetov bežného užívania z hľadiska hygienickej nezávadnosti, s dôrazom na zisťovanie patogénnych, podmienene patogénnych a toxigených mikroorganizmov, vrátane výkonu mykologických skúšok,
- podieľať sa na prevencii nozokomiálnych nákaz skúškami zameranými na kontrolu sterility predmetov a roztokov, kontrolu mikrobiálnej kontaminácie prostredia v zdravotníckych zariadeniach, kontrolu účinnosti sterilizácie pomocou bioindikátorov, kontrolu účinnosti dezinfekcie a sanitácie v nemocničnom prostredí a kontrolu účinnosti dezinfekčných látok,
- vykonávať mikrobiologickú kontrolu účinnosti sanitáčnych a dezinfekčných procesov v zariadeniach starostlivosti o ľudské telo,
- zabezpečovať mikrobiologické skúšky zložiek životného prostredia v ohniskách nákazy s cieľom laboratórne potvrdiť predpokladané faktory prenosu nákaz,
- podieľať sa na „surveillance“ alimentárnych nákaz zabezpečením mikrobiologických analýz a diagnostiky potenciálnych patogénov izolovaných potravín a vody.

Národné referenčné centrá a špecializované pracoviská MŽP zabezpečujú nadstavbovú diagnostiku a plnia funkciu národných laboratórií v európskych sieťach národných laboratórií členských štátov EÚ v úradnej kontrole potravín podľa čl. 33 ods. 1 Nariadenia Európskeho Parlamentu a Rady č. 882/2004 o úradných kontrolách a zabezpečujú činnosť kontaktných bodov v ECDC. Pracoviská poskytujú údaje z mikrobiologických analýz pre potreby európskych referenčných laboratórií a zúčastňujú sa validačných štúdií v rámci prípravy ISO štandardov a protokolov mikrobiologických metód, vrátane molekulárnej diagnostiky.

Okrem samotného výkonu mikrobiologických a mykologických analýz laboratóriá zabezpečujú zber údajov z mikrobiologických analýz vzoriek z úradnej kontroly potravín z pracovísk ÚVZ SR a RÚVZ v SR zameraných na pôvodcov zoonóz a spracovávajú dáta za verejné zdravotníctvo pre Európsky úrad pre bezpečnosť potravín. Pracoviská taktiež každoročne zabezpečujú zber a spracovanie údajov pre Spoločnú správu o zoonózach, pôvodcoch zoonóz a alimentárnych nákazách v SR za mikrobiológiu životného vo verejnom zdravotníctve a podieľajú sa na príprave jej jednotlivých kapitol.

Pracoviská MŽP spolupracujú s inými laboratórnymi a terénnymi pracoviskami verejného zdravotníctva. Ich činnosť je špecifická a nezastupiteľná inými kontrolnými zložkami. Prostredníctvom podkladov, ktoré poskytujú pre vypracovanie posudkov a hodnotení, významne prispievajú k zníženiu zdravotných rizík zo zložiek životného prostredia.

Kľúčové slová: Mikrobiológia životného prostredia. Surveillance nozokomiálnych a alimentárnych nákaz. Nadstavbová diagnostika. Národné referenčné laboratória

PREKURZOROVÉ LÉZIE PRSNÍKA B3a B3b, VERSUS KATEGÓRIA BI-RADS 3

SLOBODNÍKOVÁ J.

Fakulta zdravotníctva, Trenčianska univerzita Alexandra Dubčeka v Trenčíne a Rádiologická klinika s.r.o., Trenčín

BI-RADS 3 je kategória používaná pre morfológické opísanie a zaradenie lézií v oblasti diagnostiky ochorenia prsníka. Vychádzajú z lexikonu Americkej rádiologickej spoločnosti, kedy boli vytvorené predovšetkým pre potreby zjednotenia opisov lézií pri skríningu. Teraz existuje už 6. prepracované vydanie lexikonu – BI-RADS, kde je používanie pre rádiológov nielen pre opis mamografického vyšetrenia, ale kategorizácia aj pre sonografiu a magnetickú rezonanciu. Používa sa pre skríning aj klinické vyšetrenia.

Kategória BI-RADS 3 predstavuje kategóriu lézií z pohľadu rádiológov ako pravdepodobne benígnu. V patologickej anatómii, z histopatologických hodnotení lézií po biopsii sa stretávame s hodnotením lézií B3a a B3b. Tie sú vyhradené pre prekuzory možných malígnych lézií s určitým % pravdepodobnosti. Tieto dva kategorizačné systémy však spôsobujú zmätok pri výklade lekárov a hlavne nelekárov. To môže vyvolať významnú úzkosť u pacientov. Cieľom prezentácie je poukázať na odlišnosti týchto dvoch hodnotení a to predovšetkým z pohľadu rádiológa.

Najlepšie príklady na použitie kategórie BI-RADS 3 pri posudzovaní v mamografii, ultrazvuku prsníka a MRI prsníkov predstavujeme prehľadne na najtypickejších prípadoch vyšetrených pacientiek Rádiologickej kliniky za obdobie od roku 2004 po 2018. Rozdelenie a používanie kategórií B3a B3b odprezentujeme na základe prezentácií a dostupnej literatúry z EUSOBI 2018, ECR 2018 a 2017 a iných odborných podujatí. Samozrejme aj zhodnotením dostupných literárnych údajov.

Integrovaná variabilita používania kategórie BI-RADS 3 bola zdokumentovaná v 5. a 6. vydaní BI-RADS atlasu a podrobne popisuje použitie BI-RADS 3 pre diagnostickú aj skríningovú mamografiu, ultrazvuk a MRI. Odrádza od jeho použitia pri skríningovej mamografii. Je to kategória, ktorá sa veľmi často používa pri nerozhodnosti diagnostikov a nejednoznačnom náleze. Histo-patologická kategória je síce kategóriou jasne danou, ale z nej niekedy vyplýva komplikovaný follow up, operovať? Sledovať? Iatrogenizácia pacientky? Podhodnotenie?

BI-RADS 3 je vyvíjajúca sa hodnotiacia kategória. Keď sa používa správne, znižuje počet benígnych biopsií a súčasne umožňuje zachovať vysokú citlivosť mamografie na detekciu rakoviny prsníka v počiatočnom štádiu. Nevyhnutné je úzko spolupracovať s patologickými výsledkami a na základe vedeckých poznatkov správne kontrolovať/vyšetrovať pacientky

Kľúčové slová: BI-RADS 3. Pravdepodobne benígne, prekuzorové lézie. Karcinóm prsníka. Prekancerosa

POZÍCIA OBČIANSKEHO ZDRUŽENIA V RÁMCI POMOCI ŽENÁM S KARCINÓMOM PRSNÍKA

SLOBODNÍKOVÁ J.^{1,2}, KRAJČOVIČOVÁ Z.¹,
ADAMČIOVÁ E.³

¹ Fakulta zdravotníctva, Trenčianska univerzita Alexandra Dubčeka v Trenčíne, Trenčín

² Rádiologická klinika s.r.o., Trenčín

³ OZ Amazonky, Trenčín

Diagnostika karcinómu prsníka predstavuje v živote ženy zásadnú udalosť, ktorá vo svojich dôsledkoch významne ovplyvňuje aj všetky ostatné socioekonomické aspekty jeho života. Biomedicínsky rozvoj priniesol v poslednom období výrazný pokrok v metódach skríningu a včasnej diagnostiky tohto ochorenia ako aj v jeho terapii.

Občianske združenie Amazonky ponúka ženám, ktoré čelia tomuto ochoreniu pomoc v podobe dlhodobých fungujúcich služieb: psychologické pomoci pre pacientky a ich rodinných príslušníkov, lymfatické masáže a cvičenia s osobným trénerom, diskusie s odborníkmi v danej medicínskej oblasti. OZ Amazonky záleží na efektívnom a funkčnom skríningu karcinómu prsníka, zavádzaní inovatívnych terapeutických postupov jeho liečby a udržanie čo najvyššej kvality života u pacientok aj v pokročilých štádiách ochorenia.

Činnosť OZ Amazonky svojim zameraním vyplňa veľmi dôležitú oblasť života pacientky s karcinómom prsníka a komplexnosťou svojho zamerania tak zvyšuje účinnosť liečebných medicínskych postupov.

Kľúčové slová: Psychologická podpora pacientky. Zefektívnenie skríningu karcinómu prsníka

TOMOSYNTÉZA A JEJ MIESTO V RÁMCI DIFERENCIÁLNEJ DIAGNOSTIKY LÉZIÍ PRSNÍKOV

SLOBODNÍKOVÁ J.^{1,2}, TRUSKAVETSKÁ O.²,
TRUSKAVETSKÝ B.², MELUŠ V.¹

¹ *Fakulta zdravotníctva, Trenčianska univerzita Alexandra Dubčeka v Trenčíne, Trenčín*

² *Rádiologická klinika s.r.o., Trenčín*

Karcinóm prsníka je celosvetovo najčastejším malým ochorením u žien. Etiológia ochorenia nie je známa, preto sa venujeme najúčinnnejšej metóde sekundárnej prevencie – skríningu – mamografii. K skríningu sa používa zásadne digitálna mamografia, ktorá predstavuje tzv. 2D zobrazenie prsníka. Pokroky v technike digitálnej mamografie smerujú k 3D zobrazeniu – tomosyntéze. Retrospektívnou štúdiou sa snažíme zaradiť tomosyntézu do procesu diagnostiky včasných štádií karcinómu prsníka.

Materiál a metódy: Súbor pacientok tvoria všetky pacientky od 27.12.2015 do 30.4.2018, ktorým bola realizovaná tomosyntéza, tzn. 3D mamografické vyšetrenie spolu so syntetickým obrazom 2D z 3D tzv. S-view. Spracovali sme dáta 916 žien. Údaje sme spracovali pomocou štandardných štatistických metód. Vyšetrenie sme realizovali na digitálnom mamografickom prístroji Amulet firmy Fuji.

Výsledky: Priemerný vek pacientiek bol $54,07 \pm 10,25$ rokov, minimálny vek pacientky bol 29 rokov a najstaršia pacientka mala 86 rokov. Najpočetnejšou skupinou vyšetrení tomosyntézy bola kategória jednostrannej dvojprojekcie. Najčastejšou indikáciou k tomosyntéze bola diferenciálna diagnostika ložísk a doriešovanie nálezu po mamografii a sonografii. Biopsia bola po tomosyntéze vykonaná z celkového počtu 916 žien v 357 prípadoch (39 %). V zvyšných prípadoch vyšetrení žien ($n = 559$; 61 %) biopsia nebola indikovaná. V prípade negatívnej biopsie boli z celkového počtu 293 najviac zastúpené adenózy ($n = 201$; 69 %), nasledoval fibroadenóm ($n = 68$; 23 %), najmenej boli zastúpené ADH ($n = 13$; 4,5 %) a Phyllodes tumor ($n = 6$; 2 %). Neuvedené boli nálezy piatich žien. V prípade pozitívneho nálezu biopsie ($n = 59$) bol v 39 prípadoch potvrdený IDC, v 7 prípadoch ILC, u štyroch žien bol potvrdený DCIS. Iný nález bol v štyroch prípadoch žien, neuvedený nález u piatich žien.

Záver: Tomosyntéza má svoje pevné miesto v rámci diferenciálnej diagnostiky prsníkových lézií. V súčasnosti sa nerealizuje ako metóda skríningu, ale metóda doriešenie nejdnoznačných nálezuov a tzv. denzných prsníkov. V budúcnosti sa uvažuje, že tomosyntéza nahradí digitálnu mamografiu v rámci skríningu karcinómu prsníka

Kľúčové slova: Karcinóm prsníka. Skrínung. Digitálna mamografia. Tomosyntéza

VIBRIÁ A VIBRIÓZY NA SLOVENSKU

SOJKA M.^{1,2}, KOLOŠOVÁ A.¹, PETROVIČOVÁ K.¹

¹ *Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Komárne, Komárno*

² *Ústav mikrobiológie, Lekárska fakulta SZU, Bratislava*

Úvod: Do rodu *Vibrio* patria gramnegatívne rovné alebo zahnuté paličky. V primokultúre môžu vytvárať aj kokobacily alebo vlákna. Obvykle sú pohyblivé monotrichá alebo lofotrichá. Najzávažnejším ľudským patogénom je *V. cholerae* séro skupiny O1, sérotypy Ogawa, Inaba a Hikojima a sérotyp *V. cholerae* O139 Bengal. Toxinogénne kmene sérotypov O1 a O139 spôsobujú epidemickú cholera. Sérotypy *V. cholerae* non O1 non O139 vyvolávajú najčastejšie individuálne ochorenia ľudí alebo malé epidémie hnačkovitých ochorení. Rod *Vibrio* obsahuje aj 11 ďalších medicínsky významných druhov, ktoré vyvolávajú ochorenia u ľudí. Nebezpečným humánnym patogénom je *V. vulnificus*, spôsobujúce gastroenteritídy, infekcie kože, rán a mäkkých tkanív. Má vysoký invazívny potenciál a infekcie týmto druhom môžu viesť až k fatálnej sepe. S prihliadnutím na prirodzené vlastnosti vibrií je dôvod predpokladať výskyt patogénnych a potenciálne patogénnych druhov tohto rodu v povrchových vodách i v mineralizovaných termálnych bazénových vodách.

Materiál a metódy: Bolo analyzovaných 65 vzoriek povrchových vôd štrkoviskových jazier, 94 vzoriek bazénových vôd, 260 sterov z bazénových stien a 21 vzoriek biologického materiálu od pacientov so suspektou vibriovou infekciou. Vzorky boli vyšetrené selektívnou kultivačnou technikou na TCBS agare s pomnožením v alkalickéj peptónovej vode. Suspektné *Vibrio spp.* boli biochemicky identifikované a u *V. cholerae* bola aglutinačne stanovená príslušnosť k séro skupine O1, prípadne sérotypu O139 a produkcia cholerového toxínu.

Výsledky: Zo vzoriek vyšetrených povrchových vôd bolo izolovaných 74 kmeňov vibrií, a z bazénových vôd a sterov z bazénových stien z bazénov plnených mineralizovanou vodou, bolo izolovaných 45 kmeňov vibrií. Ani u jedného izolovaného kmeňa *V. cholerae* nebola potvrdená príslušnosť k epidemiologicky závažným séro skupinám alebo sérotypom, teda izoláty z tohto druhu boli klasifikované ako non O1 non O139. Všetky *V. cholerae* boli netoxinogénne. Zaujímavý je relatívne vyšší podiel výskytu vibrií iných ako *V. cholerae* v mineralizovaných bazénových vodách a v povrchových vodách v holúcom letnom období. Z týchto kmeňov bolo 20 identifikovaných ako obligátne halofilné druhy patogénne pre človeka. Z 21 vyšetrených biologických materiálov boli vibriá izolované v 14 prípadoch (tabuľka 1).

Tabuľka 1 Izolované vibriá

Materiál	Lokalita	Výsledok
odsatý sekret	Bratislava	<i>Vibrio cholerae</i> non O1 non O139 – rugózna forma <i>Vibrio cholerae</i> non O1 non O139
výter z ucha	Levice	<i>Vibrio alginolyticus</i>

Tabuľka 1 – pokračovanie Izolované vibriá

Materiál	Lokalita	Výsledok
výter z rekta	Levice	<i>Vibrio metschnikovii</i>
stolica	Levice	<i>Vibrio metschnikovii</i> <i>Vibrio cholerae</i> non O1 non O139
výter z ucha	Bratislava	<i>Vibrio alginolyticus</i>
výter z rekta	Levice	<i>Vibrio cholerae</i> non O1 non O139
výter z ucha	Komárno	<i>Vibrio cholerae</i> non O1 non O139 biotyp Albensis
výter z ucha	Pezinok	<i>Vibrio cholerae</i> non O1 non O139, <i>Vibrio cholerae</i> non O1 non O139 spont. aglutin.
výter z ucha	Komárno	<i>Vibrio alginolyticus</i>
výter z rekta	Skalica	<i>Vibrio sp.</i>
výter z rekta	Skalica	<i>Vibrio sp.</i>
výter z ucha	Pezinok	<i>Vibrio alginolyticus</i>
výter z ucha	Pezinok	<i>Vibrio alginolyticus</i>
výter z rany	Bratislava	<i>Vibrio mimicus</i>

Záver: V sledovaných vodách bola dokázaná významná prítomnosť rôznych druhov vibrií, z ktorých viaceré sú považované za humánne patogény. Zvlášť je potrebné zdôrazniť riziko výskytu obligátne halofilných patogénnych druhov v mineralizovaných vodách ale aj v povrchovej vode v suchom letnom období. Vibriá a vibriózy nie sú ani na Slovensku tak zriedkavé ako by sa mohlo zdať.

Kľúčové slová: Vibrio. Vibrióza. Humánne ochorenia. Mineralizované vody

HELICOBACTER PYLORI A KARCINÓM ŽALÚDKA

SVĚTLOVSKÁ D.^{1,2}, ŽITŇAN E.³, MÁJEK J.⁴,
MARDIAK J.^{2,5}

¹ Oddelenie klinických štúdií, NOÚ, Bratislava

² II. Onkologická klinika LFUK, Bratislava

³ Endoskopické poliklinické oddelenie NOÚ Bratislava

⁴ Oddelenie gastroenterológie OÚSA, Bratislava

⁵ Klinika klinickej onkológie NOÚ, Bratislava

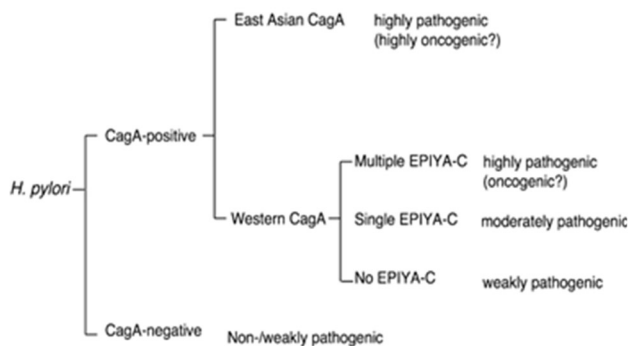
Rakovina žalúdka je stále veľkým medicínskym problémom a 3.najčastejšou príčinou úmrtí na nádorové ochorenie vo svete v roku 2018 [1,2]. Najvyššia

incidencia je pozorovaná v Ázii a v Latinskej Amerike v Andách [2].

Dlhodobá infekcia *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) sa považuje za hlavnú príčinu vzniku karcinómu žalúdka [3]. Infekcia môže viesť k chronickému zápalu, ktorý sa môže vyvinúť do intestinálnej metaplázie, dysplázie a následne vzniknúť adenokarcinómu žalúdka [4].

Vznik karcinómu žalúdka závisí na viacerých faktoroch, ktoré môžu zvýšiť riziko vzniku adenokarcinómu (5). Faktory hostiteľa zahrňujú hlavne polymorfizmus niekoľkých génov kódujúcich cytokíny a cytokínové receptory podieľajúcich sa na zápalovej odpovedi (*IL-1β*, *IL-1RA*, *TNF-alpha*, *IL-10*). Z environmentálnych faktorov je to hlavne zvýšený prísun soli, fajčenie [5,6].

Najdôležitejší virulencný faktor je CagA (cytotoxin-associated gene A), čo je 120-145 kDa proteín, ktorý produkujú niektoré kmene *H. pylori* [7,8]. Gén, ktorý kóduje CagA (cagA gén), je lokalizovaný na DNA segmente nazývanom cagPAI (cag pathogenicity island) [9,7]. Infekcia CagA pozitívnym *H. pylori* je asociovaná s vyšším rizikom vzniku atrofickej gastritídy a intestinálnej metaplázie [10] a zvyšuje riziko vzniku karcinómu žalúdka [11]. Po vstupe CagA do epitelu žalúdka dochádza k jeho fosforylácii, čím sa spúšťa kaskáda dejov, ktoré vedú ku karcinogéze. Miesto fosforylácie na CagA je charakterizované prítomnosťou sekvencie aminokyselín Kyselina glutámová (skratka E), Prolín (P), Izoleucín (I), Tyozín (Y), Alanín (A), tzv. EPIYA sekvencia. Poznáme 4 typy EPIYA sekvencií a to A,B,C,D podľa aminokyselín, ktoré EPIYA sekvenciu obklopujú [12,13,14]. Virulencia *H.pylori* je založená na EPIYA polymorfizme CagA (Obr.1). *H. pylori* infekcia vo Východoázijských krajinách je spojená s vysokou incidenciou karcinómu žalúdka oproti iným vysokoinfikovaným populáciami ako napr. v centrálnej Afrike, ktoré nemajú takú vysokú incidenciu karcinómu žalúdka, čo môže byť vysvetlené polymorfizmom CagA proteínu medzi rôznymi kmeňmi *H. pylori* vyskytujúcimi sa v rôznych geografických oblastiach [14].



Obrázok 1 Klasifikácia *H. pylori* na základe EPIYA polymorfizmu CagA [14]

Kľúčové slová: *Helicobacter pylori*. Karcinóm žalúdka. CagA. EPYIA

Literatúra

- [1] ŠÁLEK, T. Rakovina žalúdka. *Onkológia*. 2007; 2 (2): 68-72.
- [2] Cancer today. On-line dostupné na: <http://gco.iarc.fr/today>
- [3] SUZUKI, H., IWASAKI, E., HIBI, T. *Helicobacter pylori* and gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2009; 12 (2): 79-87.
- [4] SIPPONEN, P., MARSHALL, B.J. Gastritis and gastric cancer. *Western countries. Gastroenterol Clin North Am*. 2000; 29 (3): 579-592.
- [5] AHN, H.J., LEE, D.S. *Helicobacter pylori* in gastric carcinogenesis. *World journal of gastrointestinal oncology*. 2015; 7 (12): 455-465.
- [6] ZHANG, X.Y., ZHANG, P.Y., ABOUL-SOUD, M.A.M. From inflammation to gastric cancer: Role of *Helicobacter pylori*. *Oncology Letters*. 2017; 13 (2): 543-548.
- [7] TUMMURU, M.K., COVER, T.L., BLASER, M.J. Cloning and expression of a high-molecular-mass major antigen of *Helicobacter pylori*: evidence of linkage to cytotoxin production. *Infect Immun*. 1993; 61 (5): 1799-1809.
- [8] COVACCI, A., CENSINI, S., BUGNOLI, M., et al. Molecular characterization of the 128-kDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. *PNAS*. 1993; 90 (12): 5791-5795.
- [9] AKOPYANTS, N.S., CLIFTON, S.W., KERSULYTE, D., et al. Analyses of the cag pathogenicity island of *Helicobacter pylori*. *Mol Microbiol*. 1998; 28 (1): 37-53.
- [10] KUIPERS, E.J., PÉREZ-PÉREZ, G.I., MEUWISSEN, S.G., et al. *Helicobacter pylori* and atrophic gastritis: importance of the cagA status. *J Natl Cancer Inst*. 1995; 87 (23): 1777-1780.
- [11] BLASER, M.J., PEREZ-PEREZ, G.I., KLEANTHOUS, H., et al. Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing cagA is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Res*. 1995; 55 (10): 2111-2115.
- [12] HIGASHI, H., TSUTSUMI, R., MUTO, S., et al. SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CagA protein. *Science*. 2002; 295 (5555): 683-686.
- [13] HIGASHI, H., TSUTSUMI, R., FUJITA, A., et al. Biological activity of the *Helicobacter pylori* virulence factor CagA is determined by variation in the tyrosine phosphorylation sites. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 2002; 99 (22): 14428-14433.
- [14] HATAKEYAMA, M., HIGASHI, H. *Helicobacter pylori* CagA: a new paradigm for bacterial carcinogenesis. *Cancer Science*. 2005; 96 (12), 835-843.

UROGENITÁLNE INFEKČIE STANOVENÉ PCR METÓDOU – NAŠE SKÚSENOSTI

ŠIMKO D., DOLÁKOVÁ P., KUŽMOVÁ A.

Analyticko-diagnostické laboratórium a ambulancie, s.r.o., Prešov

Urogenitálne infekcie sú stále aktuálnym problémom, ktorý sa vyskytuje v našej spoločnosti už od nepamäti. Ich šíreniu napomáha nezodpovedné sexuálne správanie ľudí, časté striedanie sexuálnych partnerov ako aj nevedomosť a neinformovanosť ľudí. „Najpresnejšie“ metódy potvrdenia prítomnosti urogenitálnych mikroorganizmov využívajú priamy dôkaz ich nukleovej kyseliny, tzv. PCR metodiku. PCR metóda je rýchla a presná, čo ocenia hlavne pacienti. Pri priamom dôkaze etiologického agens je v mikrobiológii zlatým štandardom kultivácia. Indikácia molekulárno-biologických vyšetrení má najväčší význam pri diagnostike vírusových infekcií a infekcií spôsobených mikroorganizmami, ktorých kultivácia alebo identifikácia je náročná, trvá veľmi dlho, príp. sa kultivovať nedajú vôbec. Dôležité je správne načasovanie odberu vzorky klinického materiálu už pri prvých príznakov ochorenia, ideálne pred plným rozvinutím protilátkovej odpovede organizmu.

Ako každá metóda, aj metódy molekulárno-biologické majú určité nevýhody. Keďže ide len o dôkaz nukleových kyselín, nie je možné stanoviť, či je agens živý. Pozitívny kultivačný dôkaz potvrdzuje infekciu, pozitívny molekulárno-biologický výsledok dokazuje len prítomnosť etiologického agens.

Problémom využitia molekulárno-biologických metód v praxi nie je technické zabezpečenie laboratórií a praktické zvládnutie týchto metód, ale interpretácia a aplikácia výsledkov, ktoré vyžadujú vedomosti o princípoch, výhodách, ale aj limitoch týchto metód. Získané výsledky nie je možné interpretovať bez všeobecnej znalosti odboru klinickej mikrobiológie ako celku.

Spracovaním výsledkov vybraných druhov urogenitálnych infekcií, ktorých pôvodcom sú *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* vyšetrených PCR metódou v roku 2016 a 2017 sme vyhodnotili súbor našich pacientov. Cieľom bolo zistiť trend vo vývoji počtosti pozitívnych prípadov.

Kľúčové slová: Urogenitálne infekcie. Molekulárno-biologické metódy. PCR

SKRÍNING CELKOVÉHO CHOLESTEROLU U 11- A 17-ROČNÝCH DETÍ NA SLOVENSKU

ŠIMURKA P.

Fakultná nemocnica Trenčín a Fakulta zdravotníctva, Trenčianska univerzita Alexandra Dubčeka v Trenčíne, Trenčín

Vývoj aterosklerózy začína už od detstva a o jej progresii rozhodujú rovnaké rizikové faktory ako u dospelých. V detskom veku sa nedajú identifikovať jedinci s aterosklerotickými léziami pomocou klinických príznakov, a tak sa pozornosť upriamuje na biochemické ukazovatele (lipidogram), antropometrické vyšetrenia a meranie krvného tlaku, ktoré pomáhajú odkryť rizikové ukazovatele aterogenézy.

Súčasná odporúčania pre primárnu prevenciu srdcovo-cievnych chorôb na Slovensku obsahujú v náplni všeobecného lekára pre deti a dorast vykonávanie univerzálneho skrínungu cholesterolu v 11. a 17. roku. Reskrínung s rozšíreným spektrom lipidov sa vykonáva pri pozitívnom skrínungu. Vyšetrenie je súčasťou preventívnej prehliadky u všeobecného lekára pre deti a dorast v uvedenom vekovom období, je povinnou súčasťou preventívnej prehliadky, úplne hrazenou zdravotným poisťením pre všetky deti. V rámci prehliadky sa zároveň zisťujú iné základné ukazovatele rizika rozvoja aterosklerózy (anamnéza, BMI, krvný tlak, škodlivé návyky vrátane fajčenia a i.). Do odporúčaní patrí aj selektívny, reverzný skrínung (vysokorizikové rodiny).

Od roku 2004 doteraz malo vyšetrenú hladinu celkového cholesterolu v rámci univerzálneho celopopulačného skrínungu pri preventívnych prehliadkach u všeobecných lekárov pre deti a dorast v 11. a 17. roku života viac ako 1 milión detí. Najviac hypercholesterolémií je identifikovaných u detí s nesprávnymi životnými návykmi, dominantne výživovými a následnou nadváhou a obezitou. V rámci skrínungu sa zisťujú aj jedinci s genetickou záťažou – heterozygoti familiárnej hypercholesterolémie a často následne ich rodičia s touto poruchou. Skorá identifikácia umožňuje skorý preventívny zásah hlavne v životospráve. V súčasnosti je reálne napr. očakávať identifikáciu jedinca s homozygotnou formou familiárnej hypercholesterolémie.

Pravidelné preventívne prehliadky detí u všeobecných lekárov pre deti a dorast sú základom získavania údajov o rizikových faktoroch predčasnej manifestácie aterosklerózy, všeobecný lekár pre deti a dorast má kľúčovú pozíciu v manažmente z celopopulačného pohľadu. Po reskrínungu vybratí jedinci sú vyšetrení a manažovaní v špecializovaných odborných ambulanciách. Farmakoterapia dyslipidémii je možná po konzultácii so špecializovaným centrom.

Kľúčové slová: Skrínung. Cholesterol. Deti

FUNKČNÝ TEST STANOVENIA HEPARÍNOM INDUKOVANEJ TROMBOCYTOPÉNIE

ŠKORŇOVÁ I.¹, VÁŽANOVÁ A.¹, LAUKO V.², STAŠKO J.¹

¹Národné centrum hemostázy a trombózy, Klinika hematológie a transfuziológie JLF UK a UNM, Martin

²NÚSCH a.s., Bratislava

Úvod: Heparínom indukovaná trombocytopenia (HIT) je stav vyvolaný protilátkami proti komplexu heparín/PF4 pri liečbe heparínom. Spôsobuje trombo-cytopeniu a niekedy aj arteriálnu alebo žilovú trombózu. Heparín sa patofyziologicky viaže na trombocyty, pričom sa z α granúl trombocytu uvoľňuje PF4. Na povrchu trombocytu sa tvorí komplex heparín/PF4, ktorý vyvoláva u niektorých jedincov tvorbu špecifických protilátok (najčastejšie IgG) s následnou aktiváciou trombocytov, ktoré uvoľňujú zložky s prokoagulačnou aktivitou. Prevalencia je približne 0,5-5 % heparinizovaných pacientov. Laboratórna diagnostika HIT zvyčajne prebieha v dvoch krokoch. Prvým krokom je dôkaz prítomnosti protilátok proti komplexu heparín-PF4, niektorým z imunologických testov a následne pri pozitívne testu (t.j. dôkaze prítomnosti protilátok) nasleduje potvrdenie alebo vylúčenie HIT funkčným testom, ktorého úlohou je dôkaz schopnosti prítomných protilátok aktivovať trombocyty. Definitívne je možné stanoviť diagnózu HIT až pri pozitívnom výsledku funkčného testu, pričom existuje značná skupina pacientov (najmä po kardiochirurgickom výkone), ktorí majú prítomné protilátky (pozitívna v imunologických testoch), ale funkčný test majú negatívny a teda HIT nemajú.

Cieľ: Cieľom práce bolo poukázať na výhody, úskalia a možnosti aplikácie funkčného testu HIT Alert pomocou prietokovej cytometrie.

Metóda: Kontrolné vzorky zdravých darcov boli odobraté do citrónanu sodného s koncentráciou 0,109 mol/l. Vzorky pacientov boli odobraté do skúmavky bez protizrážavého činidla. Analyzovali sme sérum 14 pacientov s podozrením HIT, pomocou imunologického testu ID-PaGIA Heparin/PF4 (particle gel immunoassay). U vzoriek s pozitívnym výsledkom bolo sérum analyzované pomocou prietokovej cytometrie funkčným testom – kitom HITAlert.

Výsledky: Analýzou 14 vzoriek pacientov s podozrením HIT imunologickým testom ID-PaGIA Heparin/PF4 sme dostali 13 pozitívnych výsledkov. Ďalším testovaním týchto vzoriek prietokovou cytometriou-kitom HITAlert malo 7 vzoriek pozitívny a 6 vzoriek negatívny výsledok.

Záver: Na základe našich doterajších skúseností aplikáciou funkčného testu stanovenia HIT pomocou prietokovej cytometrie môžeme povedať, že metóda má svoje výhody (funkčný, relatívne krátky čas analýzy, nerá-

dioaktívny) i úskalia (vyžaduje špecializované pracoviská s odbornou znalosťou a prístrojovým vybavením prietokovej cytometrie).

Kľúčové slová: Heparínom indukovaná trombocytopenia. Prietoková cytometria

Podakovanie

Táto práca bola podporená projektami APVV-16-0020, Vega 1/0168/16, Vega 1/0187/17 a Centra excelentnosti pre perinatologický výskum (CEPV II, ITMS 26220120036) a Centra excelentnosti pre výskum v personalizovanej terapii (CEVYPET, ITMS 26220120053).

RIZIKOVÉ FAKTORY ŽIVOTNÉHO ŠTÝLU SÚVISIACE SO VZNIKOM NADVÁHY A OBEZITY U ŠTUDENTOV MEDICÍNY NA JLF UK

ŠTEFANOVÁ E.¹, BAŠKA T.¹, TATARKOVÁ M.¹, ŠVIHROVÁ V.¹, SZABÓOVÁ V.², HUDEČKOVÁ H.¹

¹ Ústav verejného zdravotníctva JLF UK v Martine

² Psychiatrická nemocnica Veľké Zálužie

Úvod: Obezita predstavuje z hľadiska verejného zdravia celosvetový problém. Na jej vzniku sa podieľajú prevažne faktory životného štýlu, ktoré sú často prevenťabilné. Aj preto predstavujú študenti všeobecného lekárstva významnú cieľovú skupinu, nakoľko ich úloha pri formovaní zdravých návykov je dôležitá. Naša práca prezentuje zmeny vybraných rizikových faktorov životného štýlu u študentov všeobecného lekárstva Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Martine za obdobie akademických rokov 2012/2013 až 2017/2018.

Materiál a metodika: Počas akademických rokov 2012/2013 až 2017/2018 sme prostredníctvom dotazníkov zisťovali výskyt vybraných faktorov životného štýlu u študentov 4. ročníka všeobecného lekárstva.

Výsledky: Najčastejším rizikovým faktorom životného štýlu je nepravidelné stravovanie (73,0 % u žien v roku 2012/2013) a denná konzumácia sladkostí (77,4 % u mužov roku 2012/2013). Oba faktory mali počas sledovaného obdobia klesajúci trend. Faktory stravovacích návykov ako vynechávanie raňajok (11,5 %), nedostatočná konzumácia ovocia (41,0 %) a zeleniny (44,1 %) sa signifikantne nemenili. V akademickom roku 2017/2018 výrazne vzrástol výskyt telesnej inaktivity (z 5,0 % na 37,4 %).

Záver: Nepravidelné stravovanie, denná konzumácia sladkostí a nízka konzumácia ovocia a zeleniny sú stálymi problémami v vybranej cieľovej skupine. Prudký nárast telesnej inaktivity v poslednom akademickom roku je prekvapivý a zasluhuje si ďalšie sledovanie. V závere je potrebné dbať na to, aby u študentov všeobecného

lekárstva dochádzalo k prednášaniam ich odborných vedomostí získaných štúdiom do vlastného životného štýlu.

Kľúčové slová: Behaviorálne faktory. Životný štýl. Vysokoškolskí študenti. Všeobecné lekárstvo

KTORÉ NEMOCNIČNÉ INFEKČIE NÁS TRÁPIA A ČO S TÝM?

ŠTEFKOVIČOVÁ M.^{1,2}, LITVOVÁ S.¹,
KOPILEC GARABÁŠOVÁ M.¹

¹ Regionálny úrad verejného zdravotníctva v Trenčíne, Trenčín

² Fakulta zdravotníctva, Trenčianska univerzita A. Dubčeka v Trenčíne, Trenčín

Cieľ: Upozorniť na závažnosť nozokomiálnych nákaz (NN) a rastúcej rezistencie baktérií na antiinfekčné látky. Ukázať na význam celoeurópskej spolupráce pri riešení uvedeného problému a na výhod z nej plynúcich. Poukázať na možnosti riešenia.

Metodika: Na zistenie dát o množstve a rozložení NN sa vykonalo bodové prevalečné sledovanie (BPS) NN a užívania antibiotík (ATB). BPS NN a užívania ATB v SR v roku 2017 bolo v poradí druhé sledovanie. Sledovania prebiehajú v päťročných intervaloch. Sledovanie bolo vykonané podľa štandardizovanej metodiky vypracovanej Európskym centrom pre prevenciu a kontrolu chorôb v 50 nemocniciach v SR poskytujúcich akútnu zdravotnú starostlivosť. Okrem Slovenska bolo bodové prevalečné sledovanie vykonané vo všetkých krajinách EÚ/EFTA. Údaje boli zbierané na úrovni krajiny, nemocnice a na úrovni pacienta podľa štandardného protokolu.

Výsledky: Prevalencia NN: Z 9145 sledovaných pacientov v 50 nemocniciach SR malo 370 pacientov nozokomiálnu nákazu (prevalencia 4,0 %) a 2641 pacientov (28,9 %) užívalo minimálne jeden druh antibiotika. Najvyššie hodnoty boli zistené na oddeleniach intenzívnej starostlivosti: prevalencia nozokomiálnych nákaz – 12,3 %, prevalencia užívania antibiotík – 53,9 %. Napriek tomu, že prevalencia NN na oddeleniach intenzívnej starostlivosti (OAIM a JIS) bola najvyššia, pacienti týchto oddelení tvorili len 5,2 % zo všetkých pacientov.

Najčastejšie typy NN a mikroorganizmy: zo všetkých typov NN sa najčastejšie vyskytovali infekcie močového traktu (25,8 %), pneumónie a iné infekcie dolných dýchacích ciest (20,0 %), infekcie gastrointestinálneho traktu (16,9 %), infekcie v mieste chirurgického výkonu (12,5 %), infekcie krvného riečiska (6,6 %), infekcie oka, ucha, horných dýchacích ciest (6,6 %) a infekcie kože a mäkkých tkanív (3,6 %). Najčastejšie zisťovanými patogénmi boli *Clostridium difficile* (17,4 %), *Escherichia coli* (15,2 %), *Klebsiella* spp. (13,1 %) a *Staphylococcus aureus* (9,5 %).

Používanie antibiotík: u pacientov sa antibiotiká najčastejšie indikovali z dôvodu cielenej liečby (u 1699 pacientov – prevalencia 18,6 % z CP pacientov). Z celkového počtu užívaných ATB bolo 65,4 % použitých na cieľnú liečbu (z toho 50 % na liečbu komunitnej infekcie a 13,7 % na liečbu nozokomiálnej infekcie), 17,5 % všetkých antibiotík bolo ordinovaných z dôvodu chirurgickej profylaxie (väčšina z toho bolo užívaných viac ako 1 deň) a 12,2 % z dôvodu medicínskej / nechirurgickej profylaxie.

Najpoužívanejšia skupina antimikrobiálnych látok podľa ATC 4 boli fluorochinolóny (20,4 %), najmä z dôvodu liečby (23,1 %). Z dôvodu chirurgickej profylaxie boli najčastejšie indikované cefalosporíny prvej generácie (20,4 %), kombinácie penicilínov vrátane inhibítorov betalaktamáz (15,5 %) a cefalosporíny druhej generácie (13,6 %). Z dôvodu medicínskej / nechirurgickej profylaxie sa najčastejšie používali fluorochinolóny (18,1 %).

Rizikové faktory: zo 7990 sledovaných pacientov (pacientov zaradených v štandardnom protokole, t.j. 48 nemocníc) malo 68,5 % pacientov v čase sledovania zavedenú invazívnu zdravotnícku pomoc, z toho periférny vaskulárny katéter (46,2 %), močový katéter (15,9 %) centrálny vaskulárny katéter (4,7 %) alebo boli intubovaní (1,7 %). U všetkých sledovaných pomôcok u pacientov so zavedenou invazívnu zdravotníckou pomocou bola prevalencia NN a prevalencia užívania antibiotík vyššia ako u pacientov bez nej.

Záver: Nárast antibiotickej rezistencie a s tým súvisiaci výskyt nozokomiálnych nákaz predstavuje jednu z najväčších výziev v 21. storočí. Všetky krajiny s vysokým nárastom ATB rezistencie by mali prijať striktné štandardy pre používanie ATB v nemocniciach a komunitách, určiť varovnú (kritickú) zónu rezistencie, pri ktorej je potrebné prijať urgentné opatrenia, minimálny zlatý štandard pre kontrolu nozokomiálnych nákaz by mal byť povinne zavedený vo všetkých nemocniciach. Krajiny by mali mať definované kurikulum pre prevenciu a kontrolu NN a pre antibiotický stewardship, ktoré by malo byť súčasťou učebných plánov na lekárske fakultách a fakultách ošetrovateľstva. Ďalšou dôležitou vecou je nastavenie adekvátnych indikátorov na monitorovanie implementácie a efektivity intervencií. Krajiny by na základe výzvy WHO mali urýchlene pripraviť Akčné plány prevencie a kontroly NN. Významnú úlohu v riešení tejto zložitej situácie by mal zohrať aj Európsky parlament, podobne ako tomu je v oblasti riešenia znečistenia ovzdušia, kde prijal záväzné normy pre ovzdušie.

Kľúčové slová: Nozokomiálne nákazy. Surveillance. Infekcie spojené s invazívnymi zdravotníckymi pomôckami. Infekcie v mieste chirurgického výkonu. Klostrídiové gastroenteritídy

RÝCHLA ELEKTROFORÉZA MULTIMÉROV VON WILLEBRANDOVHO FAKTORA

ŠUJANOVÁ Z., SKRAKOVÁ M.

Klinika hematológie a transfúziológie LF UK a SZU, Univerzitná nemocnica Bratislava, Nemocnica sv. Cyrila a Metoda, Bratislava

Von Willebrandova choroba (VWCh) je najčastejšie sa vyskytujúca krvácivá vrodená porucha hemostázy, podmienená abnormalitami génu vWF na 12 chromozóme.

Tieto abnormality sa prejavujú ako kvantitatívna porucha syntézy vWF (typ 1 a 3) a kvalitatívna porucha v molekule vWF (typ 2A, B, M, N).

Základná diagnostika vWCh sa opiera o klinické stanovenie krvácanosti pomocou skórovacieho systému, ktoré sa vyhodnotí zo základných vyšetrení FVIII:C, vWF: Ag, vWF:Ac, vWF:CB, funkcie trombocytov a multimérov vWF.

Vyšetrenie multimérov vWF nie je rutinnou metódou, ale rozhodujúcou mierou prispieva k určenie typov a podtypov vWCh a tak prispieva pri rozhodovaní terapeutického postupu v čase aktívneho krvácania pacienta, alebo v príprave na operačný výkon.

V roku 2016 sme zaviedli rýchlu elektroforézu multimérov vWF na agarózovom géle a imunofixácie na polautomatizovanom prístroji HYDRASYS 2.

Semiautomatizovaný prístroj vykonáva všetky kroky potrebné na získanie gélov pripravených na interpretáciu. Táto jednoduchá a rýchla technika poskytuje jasný a ľahko interpretovateľný obraz.

Kľúčové slová: Elektroforéza. Von Willebrandov faktor

KONTROLA KVALITY A APLIKÁCIA ¹⁸F A ⁶⁸Ga-EDOTRID PET RÁDIOFARMÁK V KLINICKEJ PRAXI

TÓTHOVÁ D., KRASCENITS Z., KASSAI Z.

BIONT a.s., Bratislava

⁶⁸Ga je excelentným pozitron emitujúcim rádioizotopom, ktorý sa v posledných 2–3 rokoch používa pri PET vyšetreniach v nukleárnej medicíne. Jeho relatívne krátky polčas rozpadu ($t_{1/2} = 67,7$ min) umožňuje jeho PET aplikáciu s akceptovateľnou radiačnou záťažou pre pacienta. Efektívita ⁶⁸Ga naviazaného na nosiči je porovnateľná s dlhodobou a najviac využívaným rádionuklidom ¹⁸F. ⁶⁸Ga³⁺ je stabilný rádionuklid tvoriaci komplexy s cyklickým ligandom DOTA, ktorý má vysokú afinitu a špecifickú aktivitu tvoriť konjugáty s biomolekulami. Takto značené ⁶⁸Ga konjugát s DOTA a peptidmi má

vynikajúce vlastnosti pre PET zobrazovanie neuroendokrinných a neuroektodermálnych nádorov. Spoločným pomenovaním pre $^{68}\text{Ga}^+$ nosič a príslušný peptid je ^{68}Ga -edotreotid.

Zvlášť významnou skupinou je ^{68}Ga -DOTA-peptidových konjugátov, analógov oktreetidu, ktoré sa špecificky viažu na somatostatínové receptory. Somatostatín je malý, cyklický neuropeptid prítomný v neurónoch a endokrinných bunkách. Bohato sa vyskytuje v mozgu, periférnych neurónoch, v endokrinnom systéme, pankrease a v GIT. Väčšina neuroendokrinných nádorov má zvýšenú expresiu tohto receptora a z tohto dôvodu je veľmi užitočným pre PET zobrazovanie.

Hlavným zdrojom získavania ^{68}Ga sú v súčasnosti $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generátory určené pre výskumné a klinické účely. Sú vyrábané podľa pravidiel GLP a majú garantovaný čas použitia. Na kontrolu kvality pripravených konjugátov sú kladené rovnaké požiadavky ako na cyklotrónom pripravené rádiofarmaka. Kontrola kvality sa prevádza bezprostredne po elúcii ^{68}Ga a jeho konjugácii s peptidom a nosičom. Kontrolované parametre – fyzikálne a chemické musia byť splnené pred prepustením rádiofarmaka na aplikáciu. Pri každej šarži sa kontroluje sterilita a apyrogenita prípravku.

O-(2-[F-18]fluoroetyl)-L-tyrozín (ďalej len FET) je predstaviteľom zo skupiny umelo pripravených aminokyselín, ktorý našiel využitie pri PET rádiodiagnostike. Nevýhodou jeho viackrokovej syntézy so zavedením ^{18}F do molekuly je jej nízka výťažnosť, len približne 13 % (nekorigovaný výťažok). Syntéza FET prebieha v plne automatizovanom module. FET je analógom pri používaní ^{11}C -metionínu, ktorého využiteľnosť je obmedzená krátkou dobou polpremeny (20 min). FET PET zobrazovanie vykazuje veľmi dobrú citlivosť a špecifickosť pri primárnych nádoroch mozgu, pri sondovaní rastu nádorov, pri posúdení odozvy nádoru na liečbu a pri detekcii recidív nádorov. Jeho výhodou je pomerne rýchly transport cez hematoencefalitickú (krvno-mozgovú) bariéru, pomocou špecifického transportného systému aminokyselín po in vivo podaní a neschopnosť viazať sa na plazmatické proteíny. Uvedený analóg aminokyseliny sa úspešne aplikuje v PET/CT centre našej spoločnosti už vyše roka.

Kľúčové slová: PET rádionuklidy, ^{18}F -Fluóretyltyrozín, ^{68}Ga -edotreotid

LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA V ZDRAVOTNÍCTVE – NEVYHNUTNÝ PREDPOKLAD URČENIA SPRÁVNEJ DIAGNÓZY A ZLEPŠENIA UKAZOVATEĽOV ZDRAVIA

TRECHOVÁ M.

Slovenská komora iných zdravotníckych pracovníkov

V histórii medicíny zohrali iné, nelekárske povolania veľmi dôležitú úlohu. Bez vedeckých poznatkov z biológie, chémie, fyziky, ale aj matematiky, by sa nemohla medicínska laboratórna diagnostika rozvinúť do dnešnej podoby. Napriek tomu, že mnohé činnosti v laboratóriách boli nahradené vysoko sofistikovanou technikou a modernými technológiami, ľudský faktor v podobe erudovaného zdravotníckeho pracovníka, laboratórneho diagnostika, lekára, či laboranta je v medicínskom laboratóriu nepostrádateľný. Celý proces laboratórneho vyšetrenia biologického materiálu až po uplatnenie validovaného výsledku v diagnostike a liečbe pacienta si vyžaduje spoluprácu aj s lekármi a sestrami.

Okrem poskytovania zdravotnej starostlivosti zdravotnícky systém má ešte aj druhý pilier, ktorý významnou mierou ovplyvňuje zdravie jednotlivca a tým je ochrana a podpora zdravia, Predprimárna, primárna prevencia, ale aj ostatné jej stupne veľmi aktívne ovplyvňujú zdravie človeka, komunit i celej spoločnosti. Absencia laboratórnej diagnostiky v ochrane a podpore zdravia by bola veľkým rizikom udržanie zdravia celej spoločnosti. Preto je postavenie laboratórií v ochrane a podpore zdravia rovnako nepostrádateľné.

Rovnocenné postavenie obidvoch pilierov v systéme zdravotníctva môže v budúcnosti významným spôsobom prispieť k stabilizácii systému a zníženiu nákladov na zdravotnú starostlivosť.

Kľúčové slová: Laboratórna diagnostika. Multidisciplinárna spolupráca. Riziká. Budúcnosť

ODBERY VZORIEK PITNEJ VODY A SÚVISIACICH MATRÍC PODEA AKTUÁLNYCH LEGISLATÍVNYCH PREDPISOV

UMRIAN, M.^{1,3}, KANIKOVÁ, M.^{1,3}, PAVLEOVÁ, E.¹, KNOŠKOVÁ, E.²

¹ Odbor objektivizácie faktorov životných podmienok, Úrad verejného zdravotníctva Slovenskej republiky, Bratislava

² Vysoká škola zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety, Bratislava

³ autor je študentom doktorandského štúdia na Vysoké škole zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety v Bratislave

Jedným z najdôležitejších predpokladov na spoľahlivú analýzu predpísaných ukazovateľov je správna a presná technika odberu pitnej vody podľa príslušných legislatívnych predpisov. Pitná voda z verejných vodovodov je pod neustálou kontrolou jej dodávateľov aj orgánov verejného zdravotníctva, ktoré pre overenie jej kvality vykonávajú monitoring. Kvalita vody v studniach je ponechaná na vlastníkov. Odbery vzoriek vôd

realizujú skúsení odborníci, ktorí sú akreditovaní v danej oblasti. Predmetom odberu vzoriek je kontrola vody určenej na ľudskú spotrebu a vody používanej v priemyselných podnikoch na výrobu, spracovanie alebo konzervovanie alebo predaj výrobkov alebo materiálov určených na ľudskú spotrebu, ak kvalita vody môže ovplyvniť bezpečnosť potravín v ich konečnej podobe. Odber pitnej vody sa vykonáva v súlade s Vyhláškou č. 247/2017 Z.z. a aktuálnymi legislatívnymi predpismi STN EN ISO 5667 a STN EN ISO 19458. Pri odberoch pitnej vody je nutné dodržiavať všeobecné zásady a pokyny na návrhy programov odberov vzoriek a techniky odberu vzoriek, ich konzerváciu, vzoriek na chemickú, biologickú a mikrobiologickú analýzu, prepravu, manipuláciu a skladovanie vzoriek až po ich analýzu. Následným zhodnotením predpísaných ukazovateľov je možné overiť kvalitu pitnej vody dodávanej spotrebiteľovi. Pomôckou pre odberových a laboratórnych pracovníkov môže byť súhrn a priblíženie potrebných informácií.

Kľúčové slová: Odber a kvalita pitnej vody. Technika odberu vody. Fyzikálno – chemické analýzy. Biologické analýzy. Mikrobiologické analýzy

FYZIOTERAPIA PO OPERÁCII BRUŠNEJ DUTINY

ZVERBÍKOVÁ J.¹, KOVÁČOVÁ K.¹,
SHTIN BAŇÁROVÁ P.^{1,2}

¹ *Fakulta zdravotníctva, Trenčianska univerzita Alexandra Dubčeka v Trenčíne, Trenčín*

² *autor je študentom doktorandského štúdia na Slovenskej zdravotníckej univerzite, Bratislava*

V poslednom desaťročí bola laparoscopia najinovativejšia metóda v chirurgii. Ide o minimálne invazívnu metódu, ktorá sa zanechá na povrchu niekoľko malých rezov. Laparoscopia sa stala zlatým štandardom pri liečbe žlčníka či liečbe refluxnej choroby. Technika preukazuje kratší čas rekonvalescencie a skorý návrat k bežnému životu. Nie vždy je však možná a musí sa zvoliť invazívny prístup. Otvorená operácia brucha sa vykonáva veľkými rezmi, takže oblasť, v ktorej sa pracuje je priamo viditeľná. Takýto prístup je síce účinný ale vedie k pomerne dlhej dobe rekonvalescencie a k veľkým povrchovým jazvám. Po takýchto operáciách gastrointestinálneho traktu dochádza k častej atrofii svalov hlbokého stabilizačného systému a teda dochádza k následným problémom pohybového aparátu. Hlboký stabilizačný systém (HSS) nazývaný aj Core alebo stred tela je sofistikovaný systém, ktorý ovplyvňuje celkovú postúru tela. Core znamená doslovne jadro. Ide v podstate o svalstvo trupu, ktoré je primárne tvorené brušnými svalmi, svalstvom panvového

dna, bránicou a hlbokými svalmi chrbta. Následkom operácie často vzniká aj diastáza priamych brušných svalov. Rectus abdominis tvorí anteriálnu stranu brucha. Medzi *musculus rektus abdominis dexter et sinister* sa nachádza väzivové tkanivo linea alba. Práve linea alba sa často uvoľní a vzniká „*Diastasis recti*“. Oblasť, na ktorú sa často zabúda a nevenuje sa jej dostatok pozornosti je aj panvové dno. Ide o zložitý systém svalov, ktorý drží panvu, nesie orgány a spolupodieľa sa na dychovej vlne. V dôsledku nesprávneho fungovania panvového dna môže nastať prolaps orgánov malej panvy.

Kľúčové slová: Brušné operácie. Jazva. Fyzioterapia