

TRNAVSKÁ UNIVERZITA V TRNAVE
FAKULTA ZDRAVOTNÍCTVA A SOCIÁLNEJ PRÁCE

**SROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ NĚKTERÝCH PARAMETRŮ Z ANALYZÁTORU
WONDFO FINECARE™II FIA METER S RUTINNÍMI METODAMI V
AKREDITOVANÉ LABORATOŘI**

DIPLOMOVÁ PRÁCA

TRNAVSKÁ UNIVERZITA V TRNAVE
FAKULTA ZDRAVOTNÍCTVA A SOCIÁLNEJ PRÁCE

**SROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ NĚKTERÝCH PARAMETRŮ Z ANALYZÁTORU
WONDFO FINECARE™II FIA METER S RUTINNÍMI METODAMI V
AKREDITOVANÉ LABORATOŘI**

DIPLOMOVÁ PRÁCA

Študijný program:	Laboratórne vyšetrovacie metódy v zdravotníctve
Školiace pracovisko:	Laboratoře pro lékařskou diagnostiku s.r.o.
Študijný odbor:	Laboratórne vyšetrovacie metódy v zdravotníctve
Externý školiteľ:	RNDr. Jan Kandrnál, CSc.
Školiteľ:	prof. RNDr. Vladimír Bošák, CSc.

2017

Bc. PETR ORAVSKI

TRNAVSKÁ UNIVERZITA V TRNAVE
Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce
Katedra laboratórných vyšetrovacích metód v zdravotníctve

ZADANIE ZÁVEREČNEJ PRÁCE

Meno, priezvisko a tituly študenta: Petr Oravský, Bc

Forma štúdia: ☐ denná ☒ externá

Študijný program: Laboratórne vyšetrovacie metódy v zdravotníctve

Typ záverečnej práce: ☐ bakalárska

☒ diplomová

Téma práce (dodržiňte písanie veľkých a malých písmen!):

Srovnání výsledků některých parametrů z analyzátoru Wondfo Finecare™ II FIA Meter s rutinními metodami v akreditované laboratoři.

Téma práce v anglickom jazyku (dodržiňte písanie veľkých a malých písmen!):

Testing of analysis of elected parameters using the Wondfo Finecare™ II FIA Meter analyzer with methodes used in accredited laboratory.

Meno, priezvisko a tituly školiteľa: RNDr. Jan Kandmál, CSc.

Školiace pracovisko: Katedra LVM v zdravotníctve

Anotácia záverečnej práce: Přehled principů stanovení testovaných parametrů na použitých typech přístrojů. Srovnání naměřených hodnot na testovaném přístroji Wondfo Finecare™ II FIA Meter a na analyzátozech v dané akreditované laboratoři. Vyhodnocení získaných nálezů.

Jazyk, v ktorom sa práca vypracuje: Český

Dátum schválenia zadania:

podpis študenta

LABORATOŘE
PRO LÉKAŘSKOU DIAGNOSTIKU, s.r.o.
Kosmonautů 35a, 736 01 Havířov-Podlesí
TEL.: 596 410 049 IČ: 268 42 475
IČZ: 87 668 000

podpis školiteľa
RNDr. Jan Kandmál, CSc.

Poznámka: ČITATELNE vyplnený a podpísaný formulár odovzdajte na katedre.

Čestné prohlášení

Podepsaný, Bc. Petr Oravski, tímto čestně prohlašuji, že jsem předloženou práci s názvem: „SROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ NĚKTERÝCH PARAMETRŮ Z ANALYZÁTORU WONDFO FINECARE™ FIA METER S RUTINNÍMI METODAMI V AKREDITOVANÉ LABORATOŘI“ vypracoval samostatně s použitím uvedených literárních zdrojů.

Jsem si vědom zákonných důsledků v případě, pokud výše uvedené údaje nejsou pravdivé.

V Trnavě 2017

Bc. Petr Oravski

Poděkování

Dovoluji si poděkovat externímu školiteli RNDr. Janu Kandrnálovi, CSc., za odborné vedení a cenné rady a připomínky. Vedení Laboratoře pro lékařskou diagnostiku s.r.o., děkuji za možnost provedení měření v rámci provozu a součinnost při tvorbě strategie a způsobu testování. Děkuji také za materiální podporu firmě, která zapůjčila přístroj a poskytla dostatečnou sadu měřicích kazet k provedení studie.

ABSTRAKT

ORAVSKI, P. SROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ NĚKTERÝCH PARAMETRŮ Z ANALYZÁTORU WONDFO FINECARE™II FIA METER S RUTINNÍMI METODAMI V AKREDITOVANÉ LABORATOŘI [diplomová práce]. Trnavská univerzita v Trnavě (Trnava, Slovensko) Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce. Katedra laboratórných vyšetřovacích metod v zdravotníctve. Školiteľ: prof. RNDr. Vladimír Bošák, CSc. Stupeň odbornej kvalifikácie: magister. Trnava: FZaSP TU, 2017, 83 s.

Byla provedena podrobná analýza uplatnění POCT metod v ČR a ve světě se zaměřením na využití u praktických lékařů a ambulantních specialistů. Mezi významná a často lékaři indikovaná vyšetření náleží C-reaktivní protein (CRP) a glykovaný hemoglobin (HbA1c). Výsledky stanovení těchto parametrů, získané na definovaném souboru vzorků za použití testeru Wondfo Finecare byly porovnány s výsledky měření v akreditované laboratoři na analyzátoru Arkray Inc. HA-8160 ADAMS A1c (HbA1c) a Mindray BS-400 (CRP). Z naměřených údajů kalibračních, kontrolních a reálných vzorků krve pacientů byla vyvozena použitelnost tohoto přístroje pro POCT analýzy v současné lékařské praxi. Tento postup je uplatnitelný i pro jiné testery POCT analýzy.

Klíčová slova:

POCT, Point of Care Testing, C-reaktivní protein (CRP), glykovaný hemoglobin (HbA1c), Wondfo Finecare, Arkray Inc. HA-8160 ADAMS A1c, Mindray BS-400.

ABSTRACT

ORAVSKI, P. TESTING OF ANALYSIS OF ELECTED PARAMETERS USING THE WONDFO FINECARE™II FIA METER ANALYZER WITH METHODE USED IN ACCREDITED LABORATORY [thesis]. Trnava university in Trnava (Trnava, Slovakia) Faculty of health science and social work. Department of laboratory medicine. Supervisor: prof. RNDr. Vladimír Bošák, CSc. Level of professional qualification: master. Trnava: FZaSP TU, 2017, 83 s.

Detailed analysis of the application of POCT methods in the Czech Republic and abroad was performed, focusing on the use of general practitioners and specialists. Significant and often included medical examinations indicated by physicians are C-reactive protein (CRP) and glycated hemoglobin (HbA1c). Results of the determination of these parameters obtained on a defined set of samples using a tester Wondfo Finecare were compared with the results of measurements on accredited laboratory analyzers Arkray, Inc. HA-8160 ADAMS A1c (HbA1c) and Mindray BS-400 (CRP). From the measured data, calibration, control and actual patient blood samples have been drawn useability of this device for the analyzes in contemporary medical practice. This procedure is applicable to other POCT.

Key words: POCT, Point of Care Testing, C-reactive protein (CRP), glycated hemoglobin (HbA1c), Wondfo Finecare, Arkray Inc. HA-8160 ADAMS A1c, Mindray BS-400.

OBSAH

ABSTRAKT	6
ABSTRACT	7
OBSAH	8
SEZNAM GRAFŮ A TABULEK	10
SEZNAM OBRÁZKŮ	12
SEZNAM PŘÍLOH	13
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	14
ÚVOD	15
1. LITERÁRNÍ PŘEHLED	17
1.1 Metody POCT - úvod	17
1.1.1 Popis metody	17
1.1.2 Požadavky na pracovníky – obecná doporučení	18
1.1.3 Zajištění kvality – obecná doporučení	19
1.1.3.1 Zajištění kvality - externí hodnocení kvality POCT v ČR	20
1.1.4 Nezávislá kontrola kvality – Skandinávie	25
1.2 Použití POCT metod v ordinaci praktického lékaře v ČR	27
1.3 Použití POCT metod a zkušenosti s nimi v zahraničí	32
1.3.1 Slovensko	32
1.3.2 Polsko	34
1.3.3 Skandinávie	36
1.3.4 USA	37
2. CÍLE PRÁCE	40
3. METODIKA	41
3.1 Zpracování literární rešerše	41
3.2 Design práce	41
3.3 Kritéria pro zařazení vzorků	41
3.4 Materiál pro analýzu - krev	42
3.5 Metody a postupy	43
3.5.1 Specifikace vybraných parametrů pro porovnání	43
3.5.1.1 C-reaktivní protein (CRP)	43
3.5.1.2 Glykovaný hemoglobin (HbA1c)	48
3.5.1.2.1 Jednotky pro vyjádření výsledků	49
3.5.2 Specifikace použitých analyzátorů, verifikace metod v akreditované laboratoři	50
3.5.2.1 Mindray BS-400	52
3.5.2.1.1 Popis přístroje	52
3.5.2.2 Arkay Inc. HA-8160 ADAMS A1c	55
3.5.2.2.1 Popis přístroje	55
3.5.2.3 Wondfo Finecare II FIA Meter – model FS-112	56
3.5.2.3.1 Popis přístroje	56
3.5.2.3.2 Postup měření CRP	58
3.5.2.3.3 Postup měření HbA1c	59
3.6 Porovnání naměřených dat	60
3.6.1 Korelace	60
4. VÝSLEDKY	61
4.1 Stanovení koncentrace CRP	61
4.2 Stanovení HbA1c	66

5.	DISKUZE	73
6.	ZÁVĚR	77
7.	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	79

SEZNAM GRAFŮ A TABULEK

Tabulka 1: Přehled nejčastějších metod pro POCT analyzátory

Tabulka 2: Současné možnosti organizovaného provádění EHK v ČR:

Tabulka 3: Program CRPP 2011 – závislost úspěšnosti na frekvenci účasti
(KRATOCHVÍLA, et al. 2012)

Tabulka 4: Program CRPP 2011 – frekvence účasti volené účastníky (KRATOCHVÍLA, et al. 2012)

Tabulka 5: Požadavky na minimální analytickou kvalitu, používané při testování ve SKUP (FRIEDECKÝ, KRATOCHVÍLA, 2012)

Graf 1: 25 vyšetření klinické biochemie nejčastěji indikovaných všeobecnými praktickými lékaři. (SEIFERT, et al. 2016)

Graf 2: Trend v indikaci CRP: laboratoř vs. POCT. (SEIFERT, et al. 2016)

Graf 3: Trend v indikaci INR: laboratoř vs. POCT. (SEIFERT, et al. 2016)

Graf 4: Trend v indikaci HbA1c: laboratoř vs. POCT. (SEIFERT, et al. 2016)

Tabulka 6: 10 nejčastějších požadavků, pro které respondenti uvedli, že POCT metody by mohly pomoci určit diagnózu. (SOHN, 2016)

Graf 5: Počty respondentů, kteří v této chvíli používají nebo budou používat POCT ≥ 1 krát týdně (černý pruh) z těch kteří v této chvíli používají nebo budou používat POCT metody (celý pruh). Procenta ukazují podíl respondentů.

Tabulka 7: Hodnoty HbA1c (PICKOVÁ, 2013)

Tabulka 8 : Naměřené hodnoty CRP kalibrátorů (n=2)

Tabulka 9: Naměřené hodnoty u kontrol (n=1)

Tabulka 10 : Naměřená data parametru CRP mg/ml.

Tabulka 11: Naměřené hodnoty koncentrací kalibrátoru Arkray HbA1c v mmol/mol (n=1)

Tabulka 12 : Naměřené hodnoty koncentrací HbA1c v mmol/mol (n=2), Bio-Rad Lab. Lyphochek (Diabetes Control)

Tabulka 13: Naměřené hodnoty koncentrací HbA1c v mmol/mol (n=1), RfB Německo

Tabulka 14 : Naměřená data parametru HbA1c u pacientů

Graf 6: Naměřené hodnoty CRP v mg/ml na analyzátorech Mindray BS-400 a testeru Wondfo Finecare

Graf 7: Naměřené hodnoty koncentrací CRP, osa x: Mindray BS-400, osa y: Wondfo Finecare

Graf 8: Naměřené hodnoty HbA1c v mmol/mol na analyzátorech Arkray HA-8160 a testeru Wondfo Finecare

Graf 9: Naměřené hodnoty koncentrací HbA1c (IFCC mmol/mol), osa x: Arkray HA-8160, osa y: Wondfo Finecare

Graf 10: Naměřené hodnoty koncentrací HbA1c (IFCC mmol/mol), osa x: Arkray HA-8160, osa y: Wondfo Finecare

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Vzor výsledkového listu stanovení CRP v systému POCT (SEKK, 2017)

Obrázek 2: Struktura C- reaktivního proteinu (SITKIEWICZ, 2004)

Obrázek 3: Mindray BS-400 (MEDESA, 2016)

Obrázek 4: Arkray Inc. HA-8160 ADAMS A1c : Přístroj

Obrázek 5: Arkray Inc. HA-8160 ADAMS A1c : Tiskové výstupy kalibrace a reálných vzorků

Obrázek 6: Princip fluorescenční detekce (WONDFO, 2016)

Obrázek 7: Wondfo Finecare II FIA Meter: Přístroj

Obrázek 8: Wondfo Finecare II FIA Meter: tiskový výstup měření HbA1c a CRP

Obrázek 9: Výstup z programu CurveExpert pro stanovení CRP na testovaných přístrojích

Obrázek 10: Výstup z programu CurveExpert pro stanovení HbA1c na testovaných přístrojích

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Verifikace CRP - protokol s postupy výpočty

Příloha 2: Verifikace HbA1c- protokol s postupy výpočty

Příloha 3: Příbalový leták CRP diagnostické reagentie

Příloha 4: Příbalový leták CRP kalibrační set

Příloha 5: Příbalový leták HbA1c – Eluents

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

POCT - Point of care

IN VITRO - z biologického materiálu

FIA – Fluorescenční imunoanalýza

IQC – Vnitřní řízení kvality (Internal Quality Control)

EQA - Externí posuzování kvality (External Quality Assessment)

EHK - Externí hodnocení kvality

CRP – C-reaktivní protein

HbA1c – Glykovaný hemoglobin

DM – Diabetes melitus

ČIA - Český institut pro akreditaci, o.p.s.

VPL – Všeobecný praktický lékař

LRTI - Infekce dolních cest dýchacích

ÚVOD

V současné době jsme v laboratorní medicíně svědky, nejen Česku, ale i v celé Evropě ve zdravotnictví při realizaci analýz v ambulantní péči o pacienta dvou protichůdných tendencí. Z jedné strany je to postupná centralizace klinických laboratoří do velkých, často i nadnárodních celků a na straně druhé to je až překotná snaha přibližovat a směřovat některá základní vyšetření přímo do ordinací lékařů. V této souvislosti se na trhu uplatňuje celá řada výrobců a dodavatelů, kteří nabízejí velmi jednoduchá zařízení (testerů) pro tento typ analýz. Interní i externí kontrola těchto přístrojů většinou řádně nefunguje a výsledky jsou bez patřičného ověření vydávané za srovnatelné s výstupy zdravotnických laboratoří, které již nezbytně podléhají přísnému kontinuálnímu procesu celoevropské akreditace a tím i maximální důvěryhodnosti provozovaných metod. Tyto trendy přesunu některých jednoduchých analýz přímo do ordinací lékařů jsou motivovány silnou společenskou poptávkou zejména po urychlení diagnostického procesu a kontrolu terapie. Rovněž plátcí úhrad zdravotnických vyšetření jsou této transformaci velmi příznivě nakloněni a decentralizované výkony štědře honorují. Tato nepochybně mobilnější vyšetření však představují pro pacienta větší riziko falešných výsledků s nesrovnatelně nižší spolehlivostí.

Laboratorní vyšetření je poměrně důležité pro stanovení diagnózy. Zvláště významné je toto vyšetření v situaci, kdy je nutno rozhodnout o další léčbě rychle. Mnohdy nelze ihned provést správné rozhodnutí o budoucí léčbě pacienta pouze ze zjištěné anamnézy a symptomů a někdy by získání výsledků laboratorních vyšetření trvalo příliš dlouho. Dnes již ale je možné mnoho parametrů biologického materiálu vyšetřit přímo v přítomnosti pacienta. Metody jsou nazvány Point of care testing (POCT) Pod touto zkratkou se skrývá měření a vyšetření in vitro v místě péče o pacienta pomocí přístrojů, které jsou poměrně snadno a jednoduše ovladatelné. Jedná se o jednoduchá přenosná zařízení, pracující na různých analytických principech, které lze použít nejen u lůžka pacienta v rámci nemocničního oddělení, ale i přímo pacientem nebo v ambulantní lékařské praxi. (Nejčastější využití POCT přístrojů v rámci nemocničních zařízení jsou glukometry pro stanovení glykémie z kapilární krve, v terénu patří k oblíbeným také testery ethanolu a omamných drog. Reálně je možné propojit data jako identifikace pacienta, datum, čas, identifikace vyšetřujícího pracovníka, šarže diagnostických proužků atd. s informačním systémem nemocnice.) Výhodou je pak okamžité zjištění požadované hodnoty. Srovnatelnost kvality s laboratoří nemocnice pak může být zajištěna správným zavedením

metody do praxe a dohledem kvalifikovaného pracovníka laboratoře který zajistí edukaci osob provádějících vyšetření, kteří většinou nejsou laboratorní pracovníci.

Mnohé přístroje jsou určeny pro ordinace praktických a odborných lékařů. I zde se využijí přednosti POCT zařízení jako například realizace vyšetření přímo v době kdy je pacient přítomen, což může vést k okamžité změně léčby. V tomto segmentu se mohou ale projevit negativně i nevýhody, tj že vyšetření a obsluhu neprovádí kvalifikovaný laboratorní pracovník. Navíc zde, oproti nemocničním zařízením, není zajištěn dohled centrální laboratoře. Proto je v tomto případě zajistit nutnou úroveň znalostí a dovedností pro všechny úrovně pracovníků, kteří se procesu zúčastní a zajistit i řízení kvality.

POCT metody rostou dle očekávání, i když ještě nedosahují rozšíření jako v primární péči v Německu, kde je více než 20 % laboratorních vyšetření zajišťováno těmito metodami. (SEIFERT, *et al.*, 2016)

S převzetím části diabetiků 2. typu do péče všeobecných praktických lékařů lze předpokládat nárůst vyšetření glykovaného hemoglobinu v POCT režimu, nicméně tento prozatím není výrazný. (SEIFERT, *et al.* 2016)

Podíl vyšetření CRP v POCT režimu na všech vyšetřeních, včetně laboratorních postupně narůstá od roku 2006, až v letech 2012-2014 zůstává za hranicí 40%. (SEIFERT, *et al.* 2016)

Podle odhadů finančních expertů prostředky vynakládané na vyšetření v místě péče o pacienta (POCT) nyní tvoří asi 30% celkových výdajů na diagnostiku in vitro. Pozorovaný již několik let vzestupný trend naznačuje, že v příštích letech výdaje na POCT diagnostiku mohou být větší než výdaje na laboratorní diagnostiku. (MRÓZEK, *et al.* 2013)

Předmětem této práce je i díky výše uvedeným tvrzením z české i zahraniční literatury srovnání některých parametrů (CRP a glykovaný hemoglobin) vybraného POCT zařízení určeného pro ambulantní lékaře tj Wondfo Finecare II FIA Meter s rutinními metodami v akreditované laboratoři.

1. LITERÁRNÍ PŘEHLED

1.1 Metody POCT - úvod

POCT představuje optimalizaci diagnostického procesu současnou integrací měření, monitorování a fyziologických pozorování v místě péče o nemocného, kdekoli je to potřebné (obecná definice). Zahrnuje používání techniky u lůžka (včetně přenosných analyzátorů),

v ambulanci a nebo techniky vlastněné pacientem. (BERÁNEK *et al.* 2006)

1.1.1 Popis metody

POCT tvoří nedílnou součást laboratorní diagnostiky a má pevné místo v organizačním uspořádání laboratorní medicíny. Optimální je řízený proces zavádění a efektivního využívání POCT. Doba odezvy při práci v režimu POCT musí být kratší než je doba odezvy laboratoře. (BERÁNEK *et al.* 2006)

Mezi přednosti zařízení POCT využitého v ordinaci patří zejména :

- Realizace vyšetření v době kdy je pacient přítomen
- Malý objem vzorku potřebného k analýze
- Rychlost provedené analýzy
- Případná okamžitá změna léčby na základě získání výsledku vyšetření
- Jednoduchost obsluhy takového zařízení
- Odpadá nutnost transportu vzorku do laboratoře

Samozřejmě tato zařízení přináší i nevýhody :

- Vyšší pravděpodobnost že dojde k chybě v měření
- Neprováděná, nebo chybně prováděná kontrola kvality
- Vyšší cena vyšetření ve srovnání s vyšetřením v laboratoři

Tabulka 1: Přehled nejčastějších metod pro POCT analyzátorů

Vnitřní prostředí, acidobazická rovnováha, elektrolyty	- Na, K, Cl, Ca, Mg, P - pH, pCO ₂ , pO ₂ - urea, kreatinin, laktát, bilirubin
Parametry krevního obrazu, koagulace, kardiomarkery	- hemoglobin - hematokrit - INR - NT-proBNP - cTnl - CK-MB - D-Dimer - myoglobin - CRP - troponin
Diabetes	- glukóza - HbA1c
Proteiny akutní fáze	- CRP - PCT
Ostatní	- HCG - TSH - T4 - AFP - PSA - CEA

1.1.2 Požadavky na pracovníky – obecná doporučení

POCT je založeno na předpokladu, že měření provádějí pracovníci bez specializované laboratorní erudice. Je proto nutné zajistit potřebnou úroveň znalostí a dovedností pro všechny úrovně pracovníků, kteří se procesu POCT zúčastní. To umožní edukace v oblasti POCT garantovaná kvalifikovanými laboratorními pracovníky centrální laboratoře:

- teorie přístroje pro POCT,

- odběr vzorku, zacházení se vzorkem, aplikace vzorku,
- údržba,
- řízení kvality (včetně IQC a EQA),
- měření a dokumentace,
- zdroje preanalytických a postanalytických chyb,
- skladování reagensů,
- hodnocení výsledků,
- klinický význam měření.

Dále se musí určit pravomoci a zodpovědnosti pracovníků klinického oddělení a pravomoci a zodpovědnosti pracovníků centrální laboratoře (koordinátora POCT, osoby provádějící supervizi). (BERÁNEK *et al.* 2006)

1.1.3 Zajištění kvality – obecná doporučení

Analytická kvalita se řídí obecnými mechanismy, které používají klinické laboratoře. Jedná se o vnitřní řízení kvality (IQC, Internal Quality Control) a externí posuzování kvality (EQA, External Quality Assessment). Vnitřní řízení kvality musí být vždy a pravidelně zajištěno, požadavky je možné odvodit z platných specifikací doporučeného systému EQA (limity pro IQC jsou přibližně jednou třetinou limitů pro EQA). Podrobnosti pro IQC určuje vedoucí projektu POCT v souladu s doporučeními odborné společnosti, který rovněž zodpovídá za poučení všech uživatelů. Účast v EQA je vyžadována, pokud je organizován kontrolní cyklus. Dále se doporučuje pravidelné porovnávací měření mezi jednotlivými přístroji POCT a laboratoří pomocí vzorku krve. (BERÁNEK *et al.* 2006)

Kromě IQC a EQA existují další prvky zajištění kvality, například:

- kontrola techniky v definovaných intervalech (denní, týdenní, kvartální, servisní návštěvy); v případě glukometrů minimálně 1x ročně
- audity (přezkoumávání doby odezvy, přezkoumávání všech fází procesu),
- přezkušování znalostí personálu,
- kontrola dokumentace,
- verifikace metod a porovnání s centrální laboratoří,
- kontrola stavu reagensů a přístroje před měřením,
- dodržování doporučení výrobců,

- pravidelné školení.

Kromě těchto principů je nutné analyzovat kritická místa systému POCT, možná rizika z hlediska kvality všech procesů POCT, udělení pravomocí pro odstraňování problémů. (BERÁNEK *et al.* 2006)

Výše uvedené požadavky jak pro požadavky na pracovníky tak pro systém kvality jsou v podstatě shodné jak pro nemocnice tak i pro ambulantní lékaře. U ambulantních lékařů ovšem je situace poněkud jiná, jelikož většinou POCT zařízení mají ve svém majetku a proto není edukace ani zajištění systému kvality na odborném pracovníkovi laboratoře ale na lékaři samotném, který musí nastavit systém kontroly kvality a dbát na doporučení výrobce.

Každý test musí být hodnocen se znalostí jeho citlivosti a specifity i možných falešně pozitivních a falešně negativních výsledků. U testů používajících k vyhodnocení technické zařízení je nutné důkladné zaškolení v obsluze, údržbě, posouzení správné funkce a reakce na chybová hlášení. Nezbytné je provádění kalibračních a kontrolních činností přesně podle pokynů výrobce (zavedený a fungující systém vnitřní kontroly kvality) a účast v externím ověřování kvality, pokud je dostupné. Vhodné je i pravidelné porovnávací měření mezi POCT přístrojem a laboratorním pracovištěm. Pro každé používané zařízení je nutné vedení provozního deníku se seznamem zaškolených pracovníků, datem uvedení do provozu, záznamy o výsledcích kontrolních testů, provedené údržbě, případně popisem vzniklých závad. (ZIMA *et al.* 2007)

1.1.3.1 Zajištění kvality - externí hodnocení kvality POCT v ČR

Podmínky pro nasmlouvání výkonů pro POCT (CRP, INR, HbA1c) se zdravotními pojišťovnami se nemění. Nadále platí požadavek na EHK 1x ročně a v případě neúspěšné účasti v cyklu nutnost zopakování EHK do 6-ti měsíců. (PRACTICUS, 2012)

Tabulka 2: Současné možnosti organizovaného provádění EHK v ČR:

firma	metoda	platnost certifikátu	jazyk pro komunikaci	možnost objednání EHK
QuickSeal international	INR, CRP, HBA1C	1 rok	čeština	elektronicky nebo odesláním formulářů poštou
LabQuality	CRP, HBA1C	1 rok	slovenština/čeština	odesláním formulářů poštou
SEKK	INR, CRP, HBA1C	1/2 roku pozn.: minim. objednávka 2x ročně	čeština	odesláním formulářů poštou

Existují i možnosti individuálních objednávek u jiných evropských laboratoří akreditovaných pro EHK. Objednání EHK je však nutno provádět v cizím jazyce a je nutno počítat s vyššími náklady na individuální transport vzorků. (PRACTICUS, 2012)

Postupy u jednotlivých pořadatelů EHK:

SEKK, jakožto akreditovaný poskytovatel EHK, provádí tuto činnost v souladu s požadavky normy ISO 17043. V den zahájení cyklu (uveden v plánu jako termín odeslání) rozešle SEKK všem přihlášeným účastníkům vzorky spolu s průvodní dokumentací (obecné pokyny, průvodní list, číselníky potřebné pro vyplnění průvodního listu a případně i další dokumenty). Zásilky se vzorky a dokumentací jsou účastníkům zasílány v předem daných termínech prostřednictvím zásilkové služby. Své výsledky zasílají účastníci SEKKu elektronicky (webová aplikace Cibule) nebo poštou na papíře. Pro každý cyklus EHK je stanoven tzv. stop termín, což je datum, do kterého je nutno odeslat výsledky. SEKK shromážděné výsledky zpracuje a pro účastníky cyklu vydá závěrečné zprávy, které jim rozešle. Z těchto zpráv se účastníci dovědí jak „dopadli“, tj. zda jimi zaslané výsledky zkoušek jsou hodnoceny jako úspěšné. (SEKK, 2017)

VÝSLEDKOVÝ LIST (kvantitativní výsledky)

Cyklus EHK: CRPP1/15 - Stanovení CRP systémy POCT

Stop termín (uzávěrka cyklu EHK): 15.01.2015

Odborná garance: Česká společnost klinické biochemie

Referenční laboratoř pro klinickou biochemii

Účastník:

Legenda: Vz ... vzorek VU ... výsledek účastníka Dmax[%] ... přijatelný rozdíl v procentech		C ... celkové hodnocení zkoušky + ... úspěšná zkouška - ... neúspěšná zkouška ± ... nehodnoceno		AV ... vztahná hodnota LL ... dolní mez UL ... horní mez D[%] ... rozdíl v procentech (VU a AV)	
Zkouška		[jednotka]		Základní informace, které o zkoušce uvedl účastník	
Vz. Hodnocená skupina	VU	Dmax[%]		Srovnatelnost	
		C	AV	LL	UL
C-reaktivní protein					
A Všechny výsledky	[mg/l]	S=130=Orion QuikRead 101			
		81,6	24%	+	80,5 61,18 99,82 1,4 100%
B Všechny výsledky		Váš výsledek byl před zpracováním přepočten. Váš původní výsledek: 136			
		76,8	24%		77,0 59,52 95,48 -0,3
		Váš výsledek byl před zpracováním přepočten. Váš původní výsledek: 128			
Váš celkové úspěšnosti v jednotlivých cyklech tohoto programu za poslední 2 roky:					
2013: CRPP3 = 100%	CRPP5 = 100%	CRPP6 = 100%			
2014: CRPP1 = 100%	CRPP2 = 100%	CRPP3 = 100%			
2015: CRPP1 = 100%					

Obrázek 1: Vzor výsledkového listu stanovení CRP v systému POCT (SEKK, 2017)

QSK zajišťuje pro odběratele externí hodnocení kvality. Externí hodnocení kvality provádí firma INSTAND e.V. Německo. Firma QSK tuto službu zajišťuje na území České a Slovenské republiky. Firma INSTAND e.V. je akreditovaný poskytovatel zkoušení způsobilosti. Odběratel musí v objednávce zvolit přístroj, na kterém bude externí kontrolu provádět. Zvolí si termín, pro provedení externí kontroly. V tabulce je uveden termín podání objednávky, do kterého musí být objednávka odeslána k dodavateli. Dále termín – doprava vzorků, ve kterém musí odběratel očekávat doručení vzorků. Doručení vzorků probíhá pomocí zásilkové služby. Odběratel provede měření externích kontrol (na přístroji, který zvolil v objednávce). Hodnotu = výsledek odešle k dodavateli nebo zapíše a odešle přes webový portál. Po zpracování odeslaných výsledků do společnosti INSTAND e.V., obdrží odběratel nejpozději do 45 dnů po odeslání výsledků certifikát platný na 1 kalendářní rok.

(QSK, 2017)

Nezisková organizácia Labquality (non-for-profit). Do programu Labquality je zapojených 4500 laboratórií a 1000 POCT užívateľov. Odberateľ si prostredníctvom výhradného zástupcu objedná kontrolný cyklus a mesiac dodávky na objednávke. Kontrolné vzorky na

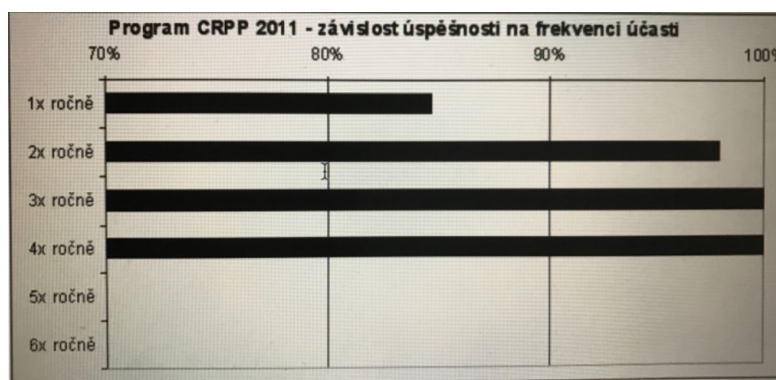
CRP sú kvapalné séra (“ready to use“). Na glykovaný hemoglobín sa dodávajú vzorky lyofilizovanej krvi, ktoré potrebujú na rozpustenie 0,5 ml destilovanej vody. Názov (typ) prístroja a výsledky merania každej vzorky zapíše účastník (ambulancia) do predpísaného formuláru, ktorý dostane z Labquality spolu so vzorkami. Výsledkový formulár môže účastník EHK poslať do Labquality aj e-mailom v elektronickej forme alebo oskenovaný, najneskôr však do určeného termínu uzávierky, ktorý je vyznačený zreteľne na sprievodnej dokumentácii ako deadline. Výsledky kontrolných analýz, doručené do Labquality po stanovenom termíne, nie sú zahrnuté do konečného vyhodnotenia Labquality vyhodnotí namerané dáta podľa účastníkov a podľa použitých metód (prístrojov) a každému účastníkovi zašle záverečnú správu (PRACTICUS, 2012)

EHK je jedným z rady nástrojů, které jsou určeny k monitorování a zvyšování kvality – v tomto případě kvality výsledků měření. Programy EHK by měly dbát nejenom o kvalitu vlastního procesu měření (analytická fáze), ale je-li to možné, měly by účastníkům přinášet informace i v oblasti preanalytiky a postanalytické fáze (interpretace výsledků apod.). Právě požadavek dosažení a udržení co nejlepší možné kvality naměřených výsledků je spojen i s otázkou (v současné době velmi citlivou) minimálního počtu cyklů EHK, kterých se dané pracoviště musí v kalendářním roce zúčastnit. Dlouhodobé zkušenosti ukazují (a to celosvětově), že vyšší frekvence účasti v EHK představuje stimul, který vede ke zlepšování kvality výsledků měření (v EHK je kvalita dle zvolených kritérií standardně poměřována úspěšností účastníků). Proto je v evropských systémech EHK naprosto běžné, že povinná minimální účast je stanovena na 2 až 12 cyklů za rok (vysoké požadavky na frekvenci účasti v EHK jsou běžné zejména ve Velké Británii, zemích Beneluxu a ve Skandinávii). Ze stejného důvodu např. norma ISO 14136 doporučuje minimální frekvenci 6x ročně. V Německu je v rámci spolkového zákona Rilibak (součást zákona Medizinische Produkt Gesetz) povinná úspěšná účast 2x ročně. Je samozřejmé, že vysoké požadavky na frekvenci účasti v EHK (např. každý měsíc), musí být odpovídajícím způsobem promítnuty i do úhrad za prováděné výkony. (KRATOCHVÍLA, et al. 2012)

Problematikou minimální frekvence účasti v EHK se opakovaně zabývala i Vědecká rada SEKK. Ta doporučila již v roce 2005 aby SEKK postupně zavedl minimální roční frekvenci 2 účastí v konkrétním programu EHK. Toto doporučení se samozřejmě týkalo laboratoří, protože masivní nástup technik POCT byl ještě ve vývojovém stádiu. Problematikou systémů POCT se Vědecká rada obsáhle zabývala již v roce 2010 (zápisy z

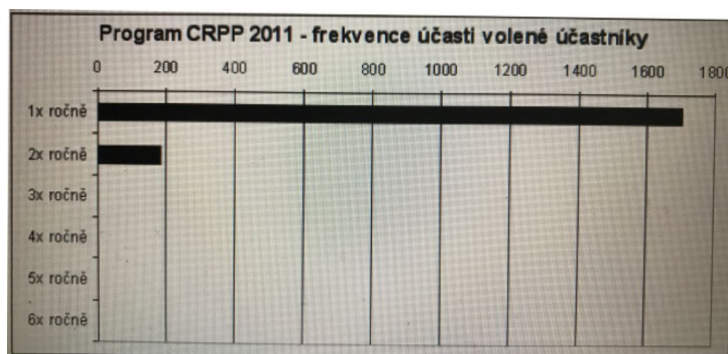
jednání jsou volně k dispozici na webu SEKK v oddíle Infoservis) a doporučila, aby i pro tyto systémy byla zavedena stejná pravidla minimální účasti, jaká platí pro laboratoře. Pro navýšení minimálního počtu cyklů na 2 ročně hovoří mimo jiné stejné argumenty, které před mnoha lety vedly k navýšení počtu povinných cyklů pro laboratoře a které uvádíme na následujících 2 obrázcích. Zde jako příklad uvádíme souhrnné hodnocení výsledků uživatelů systémů POCT, kteří prováděli měření CRP. (KRATOCHVÍLA, et al. 2012)

Tabulka 3: Program CRPP 2011 – závislost úspěšnosti na frekvenci účasti
(KRATOCHVÍLA, et al. 2012)



Obrázek 1 (tabulka 3) ukazuje, kolik cyklů EHK si jednotliví účastníci objednávali. V roce 2011 bylo možné se přihlásit do libovolného počtu cyklů za rok a je vidět, že 90% účastníků zvolilo minimalistickou variantu, tedy 1 účast za rok. Technická poznámka: 3x ročně se zúčastnilo 6 pracovišť a 4x ročně jedno pracoviště – to jsou tak malé počty, že se ve výše uvedeném grafu nepromítnou do viditelných sloupečků.

Tabulka 4: Program CRPP 2011 – frekvence účasti volené účastníky (KRATOCHVÍLA, et al. 2012)



Obrázek 2 (Tabulka 4) ukazuje celkovou úspěšnost za rok 2011 opět podle toho, kolika cyklů se dané pracoviště zúčastnilo. Za úspěch je zde považován stav, kdy daný účastník uspěl alespoň 1x ročně. Je vidět, že nejnižší úspěšnosti (85%) bylo dosaženo ve skupině účastníků, kteří se zúčastnili jen 1x ročně. V řeči čísel to znamená, že z 1700 účastníků, kteří se zúčastnili 1x ročně, neuspělo přibližně 260 účastníků. Tedy 260 pracovišť zaznamenalo nevyhovující výsledek, aniž by bylo zřejmé, zda následně došlo k nějakému zlepšení (nikdo z nich se nepřihlásil do dalšího cyklu, aby to „zkusil znovu“). Je třeba poznamenat, že podobné rozložení úspěšnosti jsme před mnoha lety získávali u některých cyklů i při pohledu na výsledky klinických laboratoří, což stálo u zrodu pravidla minimální účasti v EHK 2x ročně již kolem roku 2000. Tato minimální účast 2x ročně byla laboratořemi bez problémů akceptována. Vědecká rada zastává názor, že účast v EHK 2x ročně představuje minimalistický kompromis mezi odbornými požadavky (tj. požadavky na kvalitu) a finančními možnostmi účastníků, a proto není pravděpodobné, že by se v dohledné budoucnosti požadavek na minimální frekvenci účasti zvyšoval. (KRATOCHVÍLA, et al. 2012)

1.1.4 Nezávislá kontrola kvality – Skandinávie

SKUP (Scandinavian evaluation of laboratory equipment for primary health care) je organizace vzniklá při norském systému externího hodnocení kvality systémů POCT NOKLUS (Norwegian Quality Improvement of Primary Care Laboratories) v Bergenu. Věnuje se testování POCT (point of care testing) přístrojů v Norsku, Dánsku a Švédsku. Úspěšné testování touto organizací podmiňuje uvedení POCT systému na tamní trhy a do praxe lékařů (proplácení zdrav. pojišťovnami). (FRIEDECKÝ, KRATOCHVÍLA, 2012)

Většina jeho výsledků je publikována a veřejně přístupná na webové adrese www.skup.nu. Některé, většinou nepříznivé výsledky testování však nejsou při nesouhlasu firmy veřejně publikovány (confidentiality), zároveň však příslušný systém není propuštěn na trh, resp. do systému proplácení z veřejného zdravotního pojištění. Hlavním cílem testování je poskytnout objektivní a na výrobcích a dodavatelích nezávislé informace o kvalitě POCT systémů a jejich analytických a metrologických charakteristikách. SKUP je integrální součástí institucí pro zajišťování analytické kvality ve zdravotnických laboratořích a v linii

prvního kontaktu s pacientem Norska (NOKLUS), Dánska (DAK-E – Danish Quality Unit of General Practice) a Švédska (EQUALIS – External quality assurance in laboratory medicine in Sweden). Ty si udržely rozsáhlé pravomoci při rozhodování a doporučování přístrojů POCT pro zdravotnické účely. Před vlastním testováním se rozhoduje nejprve jaké analyty a parametry jsou vhodné pro POCT stanovení v linii prvního kontaktu s pacientem. Tato rozhodnutí jsou realizována na vládní úrovni za účasti odborných lékařských společností z oblasti laboratorní medicíny, příslušné výše uvedené organizace (NOKLUS, DAK-E a EQUALIS) a odborných lékařských společností praktických lékařů a pediatrů.

Teprve pro tyto dohodnuté a na vládní úrovni schválené analyty a parametry (jejich vyšetření jsou pak také zároveň hrazena zdravotními pojišťovnami) se na základě nabídek firem hodnotí jednotlivé systémy POCT. SKUP plánovitě testuje POCT systémy pro analyty a parametry schválené pro použití v POCT režimu ve Skandinávii (viz výše). Nově má SKUP/NOKLUS smlouvu o spolupráci s italským centrem CIRME (The Centre of Metrological Traceability in Laboratory Medicine) v Miláně. CIRME se zabývá referencí a metrologickými aspekty laboratorní medicíny ze všech jejich hledisek ve spolupráci s BIPM/JCTLM (Mezinárodní úřad pro míry a váhy/Spojená komise pro návaznost v laboratorní medicíně). Účelem spolupráce SKUP a CIRME je zajistit standardizaci měření POCT, pravdivost a srovnatelnost výsledků jejich měření na úrovni srovnatelné s klinickými laboratořemi. To je přesně ten problém, který není ani firmami ani řadou odborníků dostatečně zdůrazňován a zanedbáván u důvodů jejich obchodní politiky. Z dosti rozsáhlé činnosti SKUP se podrobněji zmíníme o sledování pacientů s diabetem a stanovení CRP, kde se u nás objevuje hodně nejasností, kontroverzních zájmů a kde je i značné riziko nekvalitní péče o pacienta. (FRIEDECKÝ, KRATOCHVÍLA, 2012)

Tabulka 5: Požadavky na minimální analytickou kvalitu, používané při testování ve SKUP (FRIEDECKÝ, KRATOCHVÍLA, 2012)

Analyt	Preciznost (CV %)	Celková chyba (%)
Glukóza (pro nemocniční odd)	≤ 5	$\leq \pm 10$
Glukóza (pro selfmonitoring)	≤ 5	$\leq \pm 20$
Glyk hemoglobin - POCT	≤ 4	$\leq \pm 10$
CRP - POCT	≤ 10	$\leq \pm 26$

Hodnoty požadované preciznosti a celkové chyby jsou převzaty z doporučení Americké asociace klinické chemie o laboratorní diagnostice a sledování diabetes mellitus z roku 2011 a v případě selfmonitoringu glukózy z mezinárodní normy ISO 15197. V případě stanovení CRP POCT jsou vyšší hodnoty dány poměrně vysokou intraindividuální variabilitou CVi (CVi se dle literatury pohybuje průměrně kolem 30 % i více). U všech systémů se přitom vyžaduje četnost technických chyb ≤ 2 %. Míní se tím stav, kdy POCT systém vydá z nějakého důvodu (např. sraženina, zákal, špatný test /cartridge či pod.) chybové hlášení.

(FRIEDECKÝ, KRATOCHVÍLA, 2012)

Preciznost se posuzuje jako hodnota opakovatelnosti měření na třech koncentračních hladinách. Celková chyba se hodnotí jako difference hodnot naměřených testovaným POCT přístrojem od hodnot verifikovaných a kontrolovaných laboratorních metod s prokázanou metrologickou návazností pracujících za užití referenčních materiálů CRM, ERM a SRM. Ty mají verifikovanou hodnotu své preciznosti a v případě glukózy jsou navíc adjustované (rekalibrované) pomocí certifikovaného referenčního materiálu SRM NIST (SRM 965 b). V případě stanovení CRP POCT adjustované (rekalibrované) pomocí certifikovaného referenčního materiálu ERM DA 472/IFCC. Standardní součástí testování glukometrů i přístrojů pro měření CRP je i vyhodnocení vlivu hematokritu. Při testování glykovaného hemoglobinu HbA1c se separátně posuzují výsledky venózní a kapilární krve. Testují se dva různé přístroje a tři šarže jeho reagentů. Analyzují se vzorky pacientů (cca 80 až 100), pro vnitřní kontrolu kvality se používá kontrolních materiálů výrobců nebo doporučených výrobců. Při testování někdy bývají uživatelé rozdělení do skupin. Jedna z nich podstupuje školení v obsluze, druhá nikoliv. Nedílnou součástí testování je i hodnocení komplikovanosti obsluhy. (FRIEDECKÝ, KRATOCHVÍLA, 2012)

1.2 Použití POCT metod v ordinaci praktického lékaře v ČR

Respekt všeobecných praktických lékařů (VPL) k významu laboratorních metod byl v roce 2008 vyjádřen vydáním Doporučeného postupu pro VPL Laboratorní metody, který spoluprací Společnosti všeobecného lékařství ČLS JEP a České společnosti klinické biochemie připravil tým vedený prof. Tomášem Zimou. (SEIFERT, *et al*, 2016)

Indikace laboratorních metod v ordinaci všeobecného praktického lékaře je významně ovlivněna doporučenými diagnostickými a terapeutickými postupy v případě kurativy, resp. Příslušnými vyhláškami v případě preventivních prohlídek. Na rozdíl od nemocničního prostředí, kde narůstá počet a rozsah dalších potřebných vyšetření ke stanovení diagnózy, v primární péči v diagnostickém procesu dominují anamnéza a fyzikální vyšetření. Dalším krokem je obvykle laboratorní vyšetření. Regulace vytváří tlak na racionalizaci vyžádaných vyšetření. Praktičtí lékaři volí tradičně laboratorní vyšetření tak, aby pozitivní, resp. negativní prediktivní hodnota byla co nejvyšší. Přesto je z perspektivy primární péče zřejmé, že řada vyšetření, včetně laboratorních, se dělá zbytečně, a to pro jistotu, nebo opakovaně. (SEIFERT, *et al.* 2016)

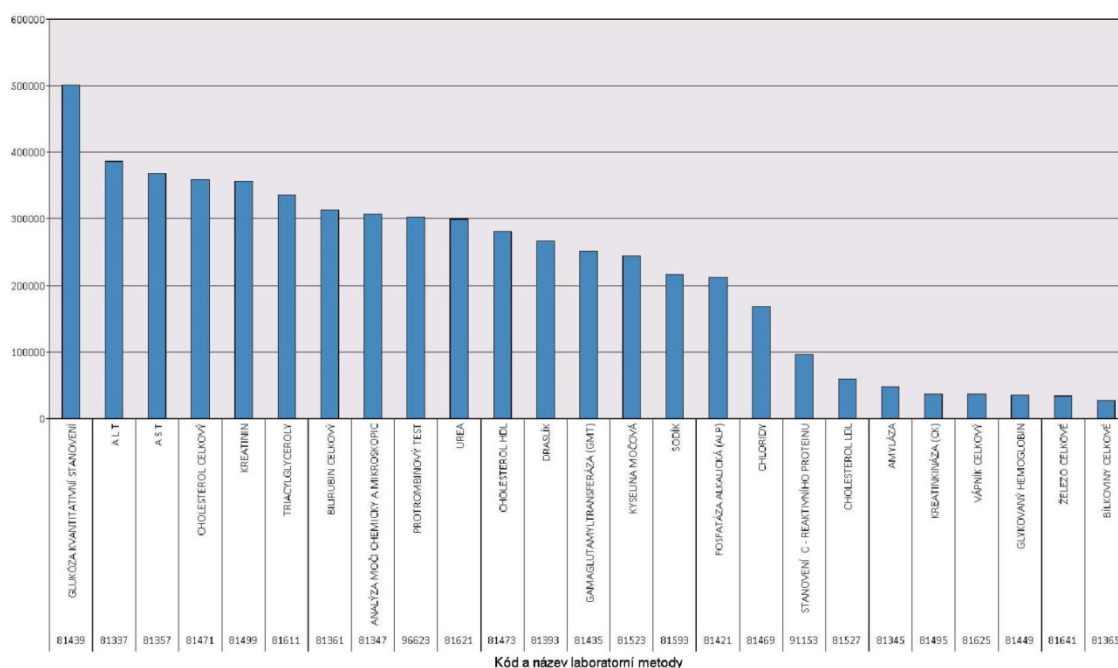
V oblasti prevence, diagnostiky i sledování pacientů se stále více uplatňuje laboratorní testování v místě poskytování péče (POCT - point of care testing). V posledních letech došlo k výraznému nárůstu POCT metod zejména v USA, Austrálii a Německu, ale i v dalších zemích, mezi které patří Česká republika. Nabídka metod dostupných v této modalitě neustále roste. Okamžitá dostupnost výsledku zvyšuje kvalitu konzultace, compliance a přináší jasný klinický benefit např. v případě CRP, INR, glykemie nebo vyšetření glykovaného hemoglobinu. Přes výhody POCT metod je nezbytné hodnotit jejich spolehlivost, přesnost a cenu. Používání POCT metod je podmíněno prováděním kontroly kvality, dokumentací výsledků a edukací personálu. POCT testování vyžaduje nákup techniky s dlouhodobou návratností investice, opakované náklady spojené s nákupem vyšetřovacích kitů a externí kontrolou kvality. Pro ordinaci se jedná o investici maximálně ekonomicky neutrální, která ovšem zvyšuje image ordinace. POCT metody snižují nepřímé náklady: např. opakované návštěvy lékařů, cesty za vyšetřením atd. (SEIFERT, *et al.* 2016)

Data a informace k zodpovězení daných otázek mají zdravotní pojišťovny. Autoři se obrátili na Zaměstnaneckou pojišťovnu Škoda, která disponuje relativně stabilizovaným a statisticky dostatečně silným souborem klientů a dostupnými přehlednými daty. Její vedení bylo ochotno tato data poskytnout. Vybraná laboratorní vyšetření s bodovými hodnotami (přepočtená na koruny) byla identifikována podle příslušných úhradových kódů. Počet pojištěnců ZP Škoda ve sledovaném období činil 116284 v roce 2001 a 139164 k 1. 1. 2014.

Vyšetření metodami klinické biochemie tvořila v letech 2010-2013 22 % podílu celkových

nákladů VPL na indukovanou péči. V tomto období nebyl zachycen změnový trend.

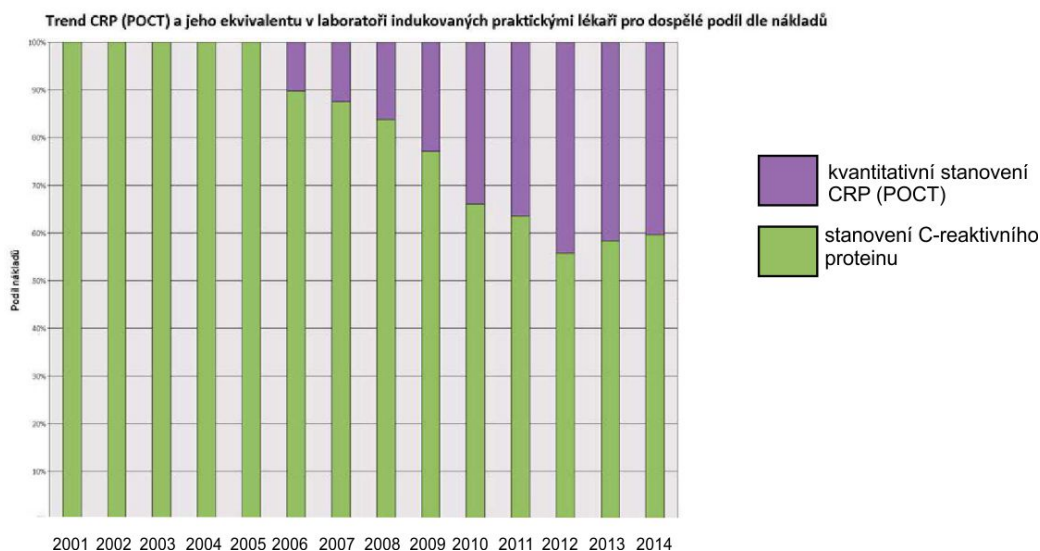
Všeobecní praktičtí lékaři se podíleli od roku 2001 19 % na celkové indukci biochemických vyšetření ve zdravotnickém systému. Od roku 2001 do roku 2014 poklesl podíl objemu bodů (vyjádřených v Kč) za vyšetření indukovaná nemocnicemi v odbornosti 801 na celkovém objemu indukované péče v odbornosti 801 o 8 %, podíl indukce ambulantních specialistů v odbornosti 801 vzrostl ze 4 % na 12 %, přičemž podíl všeobecných praktických lékařů se prakticky nezměnil: 21 % v roce 2001, resp. 22 % v roce 2014. Graf přináší 25 nejčastěji indikovaných biochemických vyšetření VPL, v pořadí v první desítce: glykemie, ALT, AST, celkový cholesterol, kreatinin, triacylglyceroly, celkový bilirubin, moč+sediment, urea a HDL cholesterol. (SEIFERT, *et al.* 2016)



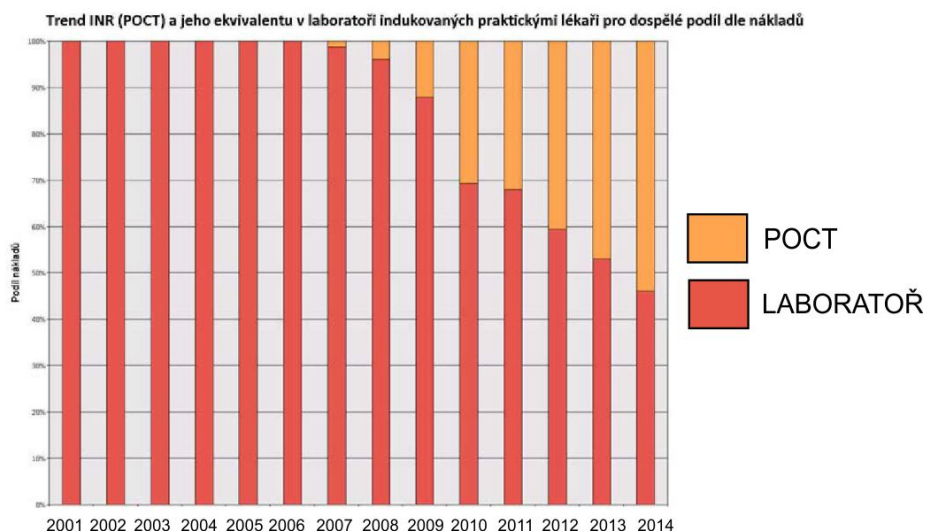
Graf 1: 25 vyšetření klinické biochemie nejčastěji indikovaných všeobecnými praktickými lékaři. (SEIFERT, *et al.* 2016)

Počet ordinací VPL vykazujících pojišťovně alespoň 1 POCT metodu se ve srovnání let 2006 a 2010 zdvojnásobila do roku 2014 ztrojnásobil. Počty v ordinacích VPL vykázaných POCT výkonů u pojištěnců ZP Škoda každoročně stoupají; od roku 2005 vyšetření CRP, od roku 2006 INR, od roku 2006 stanovení glykemie a od roku 2011 stanovení glykovaného hemoglobinu. Podíl vyšetření CRP v POCT režimu na všech vyšetřeních, včetně laboratorních postupně narůstá od roku 2006, až v letech 2012-2014 zůstává za

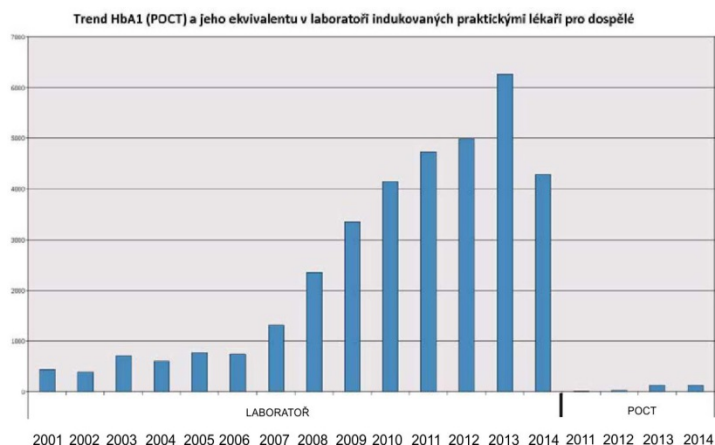
hranicí 40% (graf 2). Podobně narůstá od roku 2007 podíl stanovení INR v POCT režimu , až v roce 2014 dosahuje více než poloviny všech vyšetření (graf 2). Od roku 2012 stoupá podíl vyšetření glykovaného hemoglobinu v POCT režimu oproti laboratornímu režimu, ale i tak nedosahuje v roce 2014 (absolutní počty za 1. polovinu roku) ani 3 % (graf 3.) Od roku 2006 se podíl POCT glykemie na celkovém počtu pojišťovně vykázaných vyšetření pohybuje okolo 10 %. (SEIFERT, *et al.* 2016)



Graf 2: Trend v indikaci CRP: laboratoř vs. POCT. (SEIFERT, *et al.* 2016)



Graf 3: Trend v indikaci INR: laboratoř vs. POCT. (SEIFERT, *et al.* 2016)



Graf 4: Trend v indikaci HbA1: laboratoř vs. POCT. (SEIFERT, *et al.* 2016)

POCT metody rostou dle očekávání, i když ještě nedosahují rozšíření jako v primární péči v Německu, kde je více než 20 % laboratorních vyšetření zajišťováno těmito metodami. CRP je nejrozšířenější POCT metoda s vysokým přínosem pro klinické rozhodování v akutních situacích. graf 2 zobrazuje nárůst procentuálního podílu CRP v režimu POCT podle nákladů. Počet ordinací vybavených přístrojem na stanovení CRP stále stoupá a metoda se stává standardní. Ve všeobecné praxi zaznamenáváme rostoucí počty pacientů indikovaných k warfarinizaci, jejíž řízení je ponecháno na lékařích primární péče. Dostupnost moderních antikoagulačních přípravků, jejichž podávání nevyžaduje kontrolu protrombinového času, se zatím neprojevuje, naopak je zjevný nárůst vyšetření INR v POCT režimu. S převzetím části diabetiků 2. typu do péče všeobecných praktických lékařů lze předpokládat nárůst vyšetření glykovaného hemoglobinu v POCT režimu, nicméně tento prozatím není výrazný. Pro bližší rozbor zjištění nemají autoři k dispozici potřebné údaje o podílu diabetiků 2. typu v péči smluvních VPL. (SEIFERT, *et al.* 2016)

Počet ordinací provádějících vyšetření v POCT režimu a podíl POCT metod na laboratorních vyšetřeních narůstá. Více než polovina vyšetření INR a téměř polovina vyšetření CRP je vykázána v režimu POCT. (SEIFERT, *et al.* 2016)

1.3 Použití POCT metod a zkušenosti s nimi v zahraničí

1.3.1 Slovensko

CRP je spoľahlivým markerom, ktorý má široké využitie v každodennej ambulantnej aj nemocničnej klinickej praxi. Uplatňuje sa ako dôležitý indikátor baktériovej infekcie, pri diagnostike zápalu a tiež pri sledovaní účinnosti antibiotickej liečby. Okrem akútnej medicíny má CRP nespochybniteľné miesto pri monitorovaní kardiovaskulárneho rizika. CRP je vzhľadom na dobrú výpovednú hodnotu, široký diagnostický diapazón, jednoduché a rýchlo dostupné, ako aj finančne nenáročné vyšetrenie vhodné zaradiť do skriningového programu. Pre uvedené atribúty možno CRP právom označiť za cenného radcu v klinickej praxi. (PODRACKÁ, 2008)

Rýchly test na stanovenie hladiny CRP je pre lekára cenným nástrojom pri rozhodovaní sa medzi nutnosťou okamžitej antibakteriálnej terapie a prípadným sledovaním vývoja choroby. Pokiaľ klinické príznaky trvajú menej ako 24 hodín, za hraničnú hodnotu u dospelých sa považuje hodnota CRP 25 mg/l. Do úvahy treba vždy brať fakt, že pri veľmi krátkom trvaní choroby, tzn. menej ako 12 hodín, môže byť hladina CRP normálna aj v prípade vážnej bakteriálnej infekcie, prejavujúcej sa prudkými klinickými príznakmi. V takomto prípade je nevyhnutná okamžitá antibiotická liečba. Bakteriálnu infekciu je možné potvrdiť dodatočne, opakovaným stanovením hladiny CRP o 3 – 6 hodín neskôr. Výskyt typických klinických príznakov spolu s hodnotami CRP nad hraničnou hodnotou poukazuje na pravdepodobne bakteriálnu infekciu, vyžadujúcu si antibakteriálnu liečbu. Pacienti s nevýrazným klinickým nálezom a s hodnotami CRP pod hraničnou hodnotou si nevyžadujú okamžitú antibakteriálnu liečbu. U takýchto pacientov má opätovné stanovenie hodnoty CRP veľký klinický význam. Dobrú službu preukáže vyšetrenie krvného obrazu s diferenciálnym rozpočtom a vyšetrenie moču s močovým sedimentom. (MARKO, 2009)

Indikácie na stanovenie hladiny CRP v ambulancii VLD:

K indikáciám na stanovenie hladiny CRP v ambulancii všeobecného lekára pre dospelých (VLD) patrí:

- vírusová verus bakteriálna infekcia horných dýchacích ciest,
- tracheobronchitída verus bronchopneumónia,
- pneumónia/bronchitída verus CHOCHP alebo kardiálna insuficiencia,
- akútna cystitída verus akútna pyelonefritída,
- ulcerózna kolitída verus Morbus Crohn,
- reumatoidná artritída verus systémový lupus erytematosus,
- febrilita neznámej etiológie,
- monitorovanie efektivity antibakteriálnej terapie. (MARKO, 2009)

Cena za výkon CRP: Výkon 4571a - C – reaktívny proteín, pre kapitovaných poistencov do 18 rokov veku vrátane, s frekvenciou vykázania jedenkrát za deň na jedno rodné číslo. Výkon môže byť vykázaný lekárom s odbornosťou 007 a 008. Cena zahŕňa náklady na odobratie biologického materiálu a vyhodnotenie výsledku CRP vyšetrenia. Podmienkou úhrady tohto výkonu je splnenia nasledovných podmienok zo strany PZS:

- platný doklad o zakúpení, resp. prenájme prístrojového vybavenia, - prehlásenie o zhode k prístroju - zaznamenanie odčítania výsledku a vyhodnotenia výsledku v zdravotnej dokumentácii pacienta. (SLK, 2012)

Žiadny Certifikát o zložení CRP testu NIE JE potrebný doklad k úhrade výkonu!

(SLK, 2012)

Na Slovensku jsou jasné dané požadavky na vybavení analyzátozem CRP výnosem MZ SR:

Výnos Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky č. 09812/2008-OL z 10. septembra 2008 o minimálnych požiadavkách na personálne zabezpečenie a materiálno-technické vybavenie jednotlivých druhov zdravotníckych zariadení :

MINIMÁLNE POŽIADAVKY NA PERSONÁLNE ZABEZPEČENIE A MATERIÁLNO-TECHNICKÉ VYBAVENIE AMBULANTNÝCH ZARIADENÍ

ODDIEL 1 AMBULANCIE

I. AMBULANCIE VŠEOBECNEJ AMBULANTNEJ ZDRAVOTNEJ STAROSTLIVOSTI

A. VŠEOBECNÁ AMBULANCIA PRE DOSPELÝCH

2. Materiálno - technické vybavenie tvoria

bod 7. prístroj na stanovenie C - reaktívneho proteínu (CRP) s možnosťou stanovenia ďalších parametrov podľa použitých testov a možnosťou softwarového vybavenia na ďalšie testy, ak nie je výsledok vyšetrenia dostupný do 15 minút.

B. VŠEOBECNÁ AMBULANCIA PRE DETI A DORAST

2. Materiálno - technické vybavenie tvoria

c) ďalšie vybavenie, ktoré tvoria:

bod 9. prístroj na stanovenie C - reaktívneho proteínu (CRP) s možnosťou stanovenia ďalších parametrov podľa použitých testov a možnosťou softwarového vybavenia na ďalšie testy, ak nie je výsledok vyšetrenia dostupný do 15 minút. (Výnos MZ SR, 2008)

1.3.2 Polsko

POCT testy pro měření glukózy, nebo pro test moči již byly používány po celá desetiletí. Mezi nimi testy POCT pro stanovení CRP se zdají být relativně nové. V Polsku ještě nejsou tak široce rozšířené jako v jiných evropských zemích, je patrný vzestupný trend jejich použití u lékařů prvního kontaktu. Vzhledem ke snadnosti použití a krátkému čekání na výsledek POCT mohou poskytnout rychlou odezvu. I sami pacienti se ochotně nechají takto vyšetřit. (NOWAK, *et al.* 2014)

V současné době tedy roste zájem o diagnostiku POCT, a to jak v diagnostice prováděné u samotného pacienta (testy pro sebetestování), tak i tu kterou provádí zdravotnický personál v přímém kontaktu s pacientem. To je vzhledem k jednoduchosti označení vzorku, krátký čas čekání na výsledek (cca 5 minut), stejně jako široký panel dostupných testů. Kromě CRP v režimu point-of-care lze stanovit koncentraci mnoha dalších biochemických parametrů, např.: Glukózu, cholesterol, D-dimer, albumin, glykovaný hemoglobinu (HbA1c), TSH, a podobně. Kromě toho, pro POCT stačí malý objem biologického

materiálu, což je obzvláště důležité, když by měly být zkoušky prováděny u novorozenců a dětí. (NOWAK, *et al.* 2014)

Pro určení stanoviska lékařů k diagnostice za použití POCT zařízení pro analýzu CRP byla v roce 2009 byla provedena studie IMPAC3T, jejíž hlavním cílem bylo shromáždit názory na roli POCT při vyšetření CRP a zahájení léčby antibiotiky u pacientů s onemocněním dolních cest dýchacích. Ve studii, které se zúčastnilo 20 lékařů, všichni vyjádřili pozitivní zpětnou vazbu o těchto testech, uvažujíc, že hrají pomocnou roli v diagnostice a schopnosti rychle získat výsledek, který může přispět k bezpečné redukci předepisování antibiotik. Současně, lékaři varují před nadměrnou důvěrou k testům a jejich nadužívání vede k oslabení schopnosti objektivně studovat klinický průběh. POCT analýzy CRP v Polsku nejsou tak populární jako v severských zemích a v západní Evropě. Kromě četných zpráv vztahujících se k jejich užitečnosti při diagnostice etiologie nemocí nebo infekcí různého původu. Objevují se i střízlivější názory na snahu používat metody diagnostiku POCT. "Zlatý standard" zůstává analýza celého klinického obrazu, který může být doplněn o stanovení CRP pomocí testování point-of-care. (NOWAK, *et al.* 2014)

Podle odhadů finančních expertů prostředky vynakládané na vyšetření v místě péče o pacienta (POCT) nyní tvoří asi 30% celkových výdajů na diagnostiku in vitro. Pozorovaný již několik let vzestupný trend naznačuje, že v příštích letech výdaje na POCT diagnostiku mohou být větší než výdaje na laboratorní diagnostiku. Vzrůstající prevalence vyšetření v místě péče o pacienta vychází nejen z krátké čekací doby na výsledku a jednoduchost provedení vyšetření, ale také s zvětšujícím se rozsahem dostupných diagnostických testů. Bohužel i přes nesporné výhody POCT kvalita vyšetření u lůžka je často nižší ve srovnání s kvalitou vyšetření provedených v laboratoři. To je hlavně kvůli nedostatečné frekvence školení personálu, nebo dokonce úplného nedostatku zaškolení pro pracovníky provádějící vyšetření. Velký vliv na nevyhovující jakosti vyšetření POCT je nedostatek podpory a dohled odborníků z laboratorní diagnostiky v oblasti kalibrace zařízení (v případě potřeby), provádění kontroly kvality a nezbytné postupy nezbytné k udržení zařízení v neustálé připravenosti pracovat. Laboratorní odborníci by měli být zapojeni do POCT metod, provádět dohled a nezbytné kroky analytických postupů prováděných mimo laboratoř. Žádná jiná skupina zdravotníků totiž nemá dostatečné dovednosti, znalosti a zkušenosti, které je předurčují dohlížet na POCT vyšetření i když jej přímo nevykonávají. (MRÓZEK, *et al.* 2013)

1.3.3 Skandinávie

Ve studii u 803 pacientů zveřejněné v časopise Scandinavian Journal of Primary Health Care v roce 2010, autorka popisuje vliv CRP testu provedeného lékaři primární péče u pacientů s akutním kašlem na jejich rozhodnutí předepsat antibiotika ve srovnání s klasickými metodami vyšetření (poslech,...). Zajímavé jsou zde nejen informace o rozšíření POCT vyšetření ve Skandinávii ale i porovnání s klasickými metodami vyšetření u konkrétní diagnózy.

POCT analýza pro C-reaktivní protein (CRP) byla zavedena do klinické praxe na počátku devadesátých let. Studie ukázaly, že CRP test byl lepší prediktor pneumonie než další klinická vyšetření a byl rychle přijat jako rutinní vyšetření v klinické praxi ve Skandinávii. V roce 2005 pak 42% švédských pacientů kteří navštívili praktického lékaře s infekcí dýchacích cest bylo testováno na CRP. (JAKOBSEN, 2010)

Infekce dýchacích cest jsou nejčastější indikací pro antibiotické preskripce v primární péči. Je známo že hodnota klinických vyšetření u infekce dolních cest dýchacích (LRTI) je přeceňována. Cílem studie bylo nezávisle stanovit vliv POCT testu pro C-reaktivní protein (CRP) na předepisování antibiotik u pacientů s akutním kašlem nebo příznaky připomínající LRTI, a jak symptomy a vyšetření hrudníku mohou ovlivnit rozhodnutí pro to zda test bude nebo nebude používán. (JAKOBSEN, 2010)

Výsledek CRP má hlavní vliv na rozhodnutí, zda se má nebo nemá předepsat antibiotikum při akutním kašli. Kliničtí lékaři přikládají menší váhu zbarvení hlenu a abnormálnímu zvuku při vyšetření poslechem, když je k dispozici hodnota CRP. Testování CRP by mohlo zabránit nepřiměřenému spoléhání se na klinické příznaky, které špatně předpovídají prospěch z antibiotické léčby. (JAKOBSEN, 2010)

Důsledky pro klinické praxe a budoucí výzkum:

I když lékaři v severských zemích běžně používají hodnoty CRP pro své rozhodování o léčbě, nebylo zcela jasné, zda to vede ke snížení preskripce antibiotik. V nedávné studii o LRTI v primární péči, (Cals et al.) bylo prokázáno, že obě vyšetření (CRP a vylepšené

konzultační dovednosti) přispěly významně ke snížení antibiotické preskripce, aniž by byla ohrožena bezpečnost pacientů. (JAKOBSEN, 2010)

1.3.4 USA

Studie zveřejněná v časopise Journal of the American Board of Family Medicine (autoři vybrali data z mezinárodní studie týkající se USA) popisuje stav POCT v USA u praktických lékařů.

POCT metody u praktických lékařů jsou používány v USA již desetiletí pro diagnostiku akutních stavů, jako je těhotenství, infekce močových cest a streptokoková faryngitida. POCT metody začaly být v poslední době využívány k diagnostice a monitorování chronických onemocnění jako je např. diabetes mellitus a INR u pacientů léčených warfarinem. (SOHN, 2016)

Zájem o POCT se zvyšuje v důsledku technologického pokroku, které umožňují vyrobit menší a jednodušší analytické zařízení, které dokáže změřit či monitorovat stav pacienta u lůžka a v ordinacích praktických lékařů při celkových nižších nákladech. Kromě toho POCT mohou zvýšit spokojenost pacientů u chronických onemocnění, a to zejména v případech diabetes mellitus 2. typu a dyslipidémie, kdy jsou okamžitě k dispozici výsledky a POCT poskytne data pro následnou konzultaci lékaře s pacientem. (SOHN, 2016)

Tabulka 3 zobrazuje 10 nejčastějších požadavků, pro které respondenti uvedli, že POCT metody by mohly pomoci určit diagnózu. Diabetes mellitus je nejčastěji zmiňovaný požadavek, následuje infekce močových cest a streptokoková pharyngitida. (SOHN, 2016)

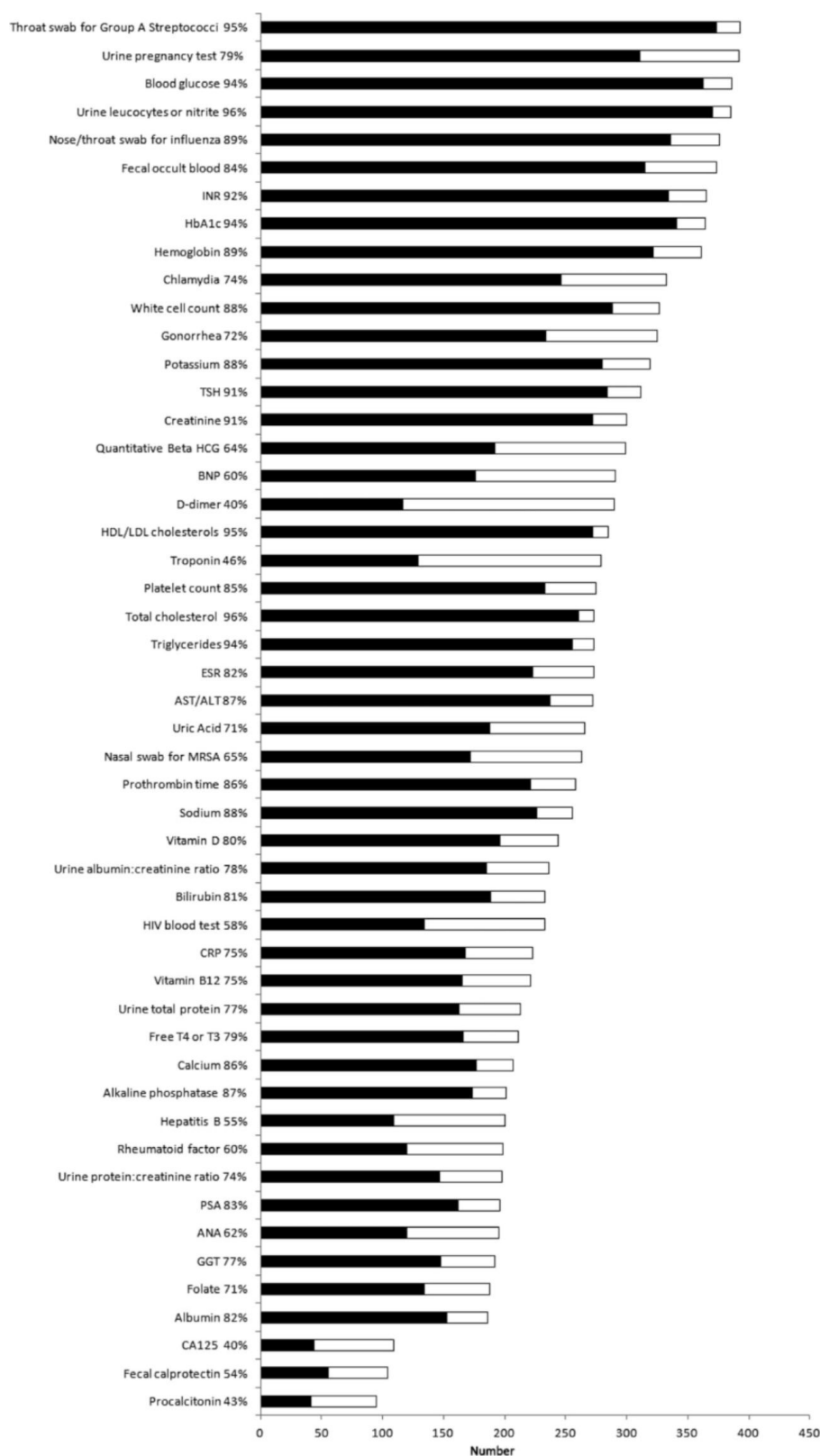
Celkem 405 praktických lékařů odpovědělo z 5553 praktických lékařů, kteří byli obesláni emailem, odpověď činí 7% (SOHN, 2016)

Tabulka 6: 10 nejčastějších požadavků, pro které respondenti uvedli, že POCT metody by mohly pomoci určit diagnózu. (SOHN, 2016)

Stav/diagnóza	Respondenti (počet: 405)	
	Počet	%
Diabetes	229	57
Infekce močového traktu	225	56
Streptokoková pharyngitída	218	54
Chřipka	175	43
Těhotenství	103	25
Anémie	72	18
Infekční mononukleóza	60	15
INR/antigoagulace	57	14
Akutní kardiologická kondice	55	14
Lipidy	48	12

Obrázek (Graf 5) zobrazuje point-of-care testy v sestupném pořadí podle využití nebo potenciálního využití. Procenta ukazují podíl respondentů, kteří používají nebo by chtěli používat každý POCT testy ≥ 1 krát / týden. (SOHN, 2016)

Mnoho lékařů uvedlo, že používají nebo by chtělo používat POCT, což naznačuje skutečnou příležitost pro další expanzi POCT technologií. Pokud testy POCT jsou vysoce spolehlivé, snadno ovladatelné a levné, je velmi pravděpodobné, že se jejich použití výrazně zvýší, což vede k lepší diagnostice akutních a chronických zdravotních stavů, lepší zvládání chronických onemocnění, jako je DM a ke zlepšení spokojenosti lékaře i pacienta. POCT může také snížit doporučení ke specialistům či na odd emergency, ale tato hypotéza musí být testována. (SOHN, 2016)



Graf 5: Počty respondentů, kteří v této chvíli používají nebo budou používat POCT ≥ 1 krát týdně (černý pruh) z těch kteří v této chvíli používají nebo budou používat POCT metody (celý pruh). Procenta ukazují podíl respondentů.

2. CÍLE PRÁCE

Hlavní cíl: Posoudit, zda mezi výsledky získanými měřeními v POCT režimu a výsledky z akreditované laboratoře existuje dostatečná shoda při simultánních měřeních.

Vedlejší cíle: Nashromáždit prostřednictvím literárního přehledu aktuální informace o POCT technologii v ČR i zahraničí, o využití této technologie v praxi, seznámit se se zajištěním systému kontroly kvality v této oblasti. Provést měření vzorků na POCT testeru a současně i na přístrojích, jenž jsou v rutinním provozu laboratoře. Provést vyhodnocení získaných dat a zhodnotit použitelnost a limity pro lékařskou praxi.

3. METODIKA

3.1 Zpracování literární rešerše

Výběr podkladů pro sestavení literárního přehledu jsme realizovali převážně vyhledáním zdrojů potřebné literatury na síti internet. Vzhledem k tomu že se jedná o problematiku které se věnuje odborná společnost jako je Česká společnost klinické biochemie, byly využity i publikované metodické postupy a doporučení. Použili jsme i klasická skripta či učebnice pro VŠ pro shromáždění údajů o zpracování vzorků či popisu vyšetřovaných parametrů. Jelikož zařízení POCT produkují soukromé převážně zahraniční firmy, tak podkladem pro tuto práci byly i jejich firemní materiály popisující dané přístroje, pracovní postupy či technologie a odkazy na zahraniční zdroje či studie. Pro dohledání odborných článků z lékařských časopisů jsme využili i databázi PubMed a Mendeley.

3.2 Design práce

Předmětem této práce je porovnání výsledků vzorků analyzovaných na POCT testeru a souběžně i na analyzátořech v akreditované laboratoři. Parametry jsme zvolili CRP a HbA1c. Všechny analytické procesy byly provedeny v Laboratoři pro lékařskou diagnostiku s.r.o. Havířov, která je nestátní zdravotnickou laboratoří s více než dvacetiletou tradicí, zakotvenou zejména v oblasti laboratorní medicíny. Laboratoř provádí základní i vysoce speciální vyšetření a poskytuje konzultační a znaleckou činnost převážně v oborech klinická biochemie, hematologie a toxikologie. Pracuje dle principů evropské normy pro zdravotnické laboratoře, EN ISO 15 189. Laboratoř je akreditována ČIA a pravidelně se zúčastňuje kontrolních cyklů externí kontroly kvality.

3.3 Kritéria pro zařazení vzorků

Za celé období od 10.3.2017 do 20.3.2017 jsme získali pro použití v této práci celkem 37 vzorků krve. Jednalo se o pacienty různých praktických lékařů odeslaných do akreditované laboratoře s různě závažnými patologickými stavy. Odběry byly prováděny v ambulancích lékařů. Vzorky se skládaly z venózních odběrů. Soubor zahrnoval vzorky žen i mužů.

3.4 Materiál pro analýzu - krev

Je nutné se vyvarovat všech preanalytických chyb, zejména nesmí být přítomny ve vzorku vzduchové bubliny a krevní sraženiny. Je třeba dodržet správný postup při odběru, transportu a před samotným měřením. Krevní vzorek je nutné před vložením do systému řádně promíchat za účelem zajištění jeho homogenity. (ČERMÁKOVÁ, ŠTĚPÁNOVÁ, 2003)

Při odběru vzorků krve od pacientů je nutno dodržovat požadavky laboratoře, v našem případě laboratorní příručku Laboratoře pro lékařskou diagnostiku s.r.o. Havířov, kde byla tato práce realizována:

Odběr pacienta se provádí většinou v ranních hodinách nalačno, protože koncentrace sledovaných látek během dne kolísá a je zatížena zejména posledním příjmem potravy, včetně pití. Pacient musí být poučen, že nejméně 24 hodin před odběrem nemá konzumovat tučná jídla. Pokud lze vysadit podávání léků, je rovněž vhodné tyto po tuto dobu vynechat nebo omezit. V této souvislosti je rovněž třeba uvést, že pacient by se měl vyvarovat konzumace firemních i domácích potravinových doplňků a vitamínových preparátů. Není-li tento předpoklad korektního odběru naplněn, je nutné tuto skutečnost na žádance i v dokumentaci vyznačit. Pacient rovněž nemá před odběrem pít silný čaj či černou kávu, alkoholické nápoje a nemá kouřit. Vyšetřovaný však nesmí při odběru ani trpět žízní, proto je vhodné, aby se dostatečně napil nejlépe vody či neslazeného ovocného čaje.

Vlastní venepunkce za účelem odebrání krve je většinou součástí práce zdravotní sestry, eventuálně lékaře. Na správně provedeném odběru značně závisí získaný výsledek a kvalita zpětné informace, výsledku. Před vlastním odběrem provádíme dezinfekci odběrového místa roztoky či aerosolovými přípravky. Před venepunkcí je nezbytné nechat ošetřené místo dokonale uschnout, neboť i malý podíl dezinfekčního prostředku může ve styku s krví vyvolat silný rozpad jejích elementů, zejména erytrocytů, ale i leukocytů a trombocytů. K této kontaminaci může také docházet odložením zátky odběrové zkumavky na dezinfekci ošetřený pracovní stůl či jiný povrch v ordinaci. Dokonalé zaschnutí dezinfekčního prostředku je také dobrou dostatečnou expozicí preparátu, a tím i dodržení správného hygienického postupu. Při provádění venepunkce je důležité pacientovi zabezpečit pohodlí. Krev je vhodné odebírat v sedě, přičemž před tím by měl být nejméně

dvacet minut v klidovém režimu. Dovoluje-li to stav pacienta, natáhneme mu ruku vpřed, aby žíly vystoupily blíže k povrchu. Necvičit!!! Nepumpovat!!! Obecně se již nepoužívá ani škrcení paže. Při otevřeném systému odběru žílu napícháme krátkou odběrovou jehlou průměru 0,8-0,9mm a opatrně nasajeme do PP stříkačky objemu 5 ml a převedeme do předem připravené, odzátkované zkumavky do výše 1/3, tedy maximálně 2 ml krve, zkumavku neprodleně zazátkujeme a opakovaně pomalým převrácením 10x promícháme. Zkumavku označíme etiketou se jménem a eventuálně i rodným číslem dle žádanky a nalepíme tak, aby nebránila odečtení hladiny ve zkumavce. Pro další uchování ji skladujeme při teplotě místnosti ve svislé poloze v temnu při teplotě cca 23 °C mimo dosahu tepelných zdrojů. Preparace našich zkumavek garantuje za těchto podmínek význačně větší časovou stabilitu všech stanovovaných analytů, včetně glukózy a kalia. Důležité je připomenout, že ke všem odběrům je nutné používat rukavice, vzhledem k možnému potřísnění. Při kapilárním odběru, většinou jen glykémie, provádíme vpich do bříška prstu po jeho dezinfekci a oschnutí speciální lancetou k tomuto účelu vyráběnou. Nevhodné použití jehly vede k příliš hlubokému, neúčelnému poranění a je třeba tento způsob odběru odmítat. Do preparované mikrozkušavky, kepu, krev odebíráme otřením vytvořivší se kapky po mírném přitlaku prstu o okraj odběrové nádoby. Je nezbytné takto odebrat minimálně 100-150 µl krve (4-5 kapek). (MIKLÓŠOVÁ, 2015)

3.5 Metody a postupy

3.5.1 Specifikace vybraných parametrů pro porovnání

Pro porovnání měření na analyzátoru POCT a akreditovanou laboratoří jsme zvolili C-reaktivní protein (CRP) a glykovaný hemoglobin (HbA1c).

3.5.1.1 C-reaktivní protein (CRP)

Název tohoto proteinu je odvozen od jeho schopnosti precipitovat C-polysacharid pneumokoků. U zdravého člověka se nedá prokázat. Jeho syntéza v játrech je vyvolána cytokiny, zejména interleukinem 6 (IL-6). Koncentrace CRP v séru začíná růst 6 - 9 h po začátku zánětu a vrcholu dosahuje za 1 - 3 dny. Je to cyklický pentamer o molekulové hmotnosti 100 - 115 tisíc. Část molekuly CRP vykazuje homologii s konstantní částí těžkého řetězce IgG, uplatňuje se tedy nejspíše v imunitní obraně organismu.

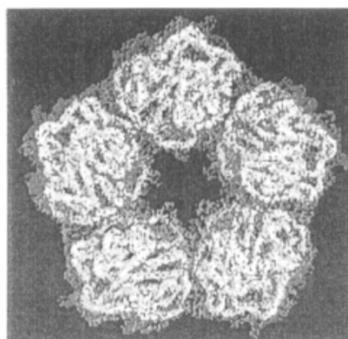
Ve srovnání s jinými bílkovinami, jejichž koncentrace v séru při akutním zánětu rovněž

roste, reaguje CRP nejrychleji a největším nárůstem. Nejvýraznější změny koncentrace CRP vyvolá bakteriální zánět, u zánětů virových je nárůst malý.

K indikacím stanovení patří např.:

- včasná diagnostika bakteriálních infekcí novorozence
- sledování průběhu bakteriální infekce
- odlišení bakteriálního a virového zánětu
- včasný záchyt hnisavých komplikací po operaci
- odlišení bakteriálního zánětu močových cest od pyelonefritidy
- sledování průběhu a aktivity revmatických chorob a maligních onemocnění

(RACEK, 2006)



Obrázek 2: Struktura C- reaktivního proteinu (SITKIEWICZ, 2004)

V diagnostice se využívá dynamika změn v závislosti na stavu, rozsahu a průběhu zánětlivé reakce. Hladina CRP odráží aktivaci cytokinové kaskády. Je to citlivý, ale nespecifický marker, ke stimulaci stačí malá zánětlivá reakce. Hladiny CRP 3. a 5. den po operaci jsou považovány za prognostický faktor z hlediska ohrožení septickou komplikací. Očekává se pokles hladiny CRP 5. den po operaci (PETROVÁ, ŠVÁBOVÁ, 2010)

Genetické faktory:

V hodnotách CRP se vyskytují rasové i etnické rozdíly. Gen pro syntézu CRP je umístěn na chromozomu 1 (1q21-q23). V tomto genu se vyskytují četné polymorfizmy s vertikálním přenosem ve 30–50 %. Genomové studie prokázaly souvislost hodnot CRP s mutacemi v genech pro syntézu receptoru pro IL-6 (IL6R), IL-6, receptoru pro IL-1 (IL1R) a v molekulách účastnících se metabolismu cukrů a tuků. Nejvyšší hodnoty CRP byly v genomových studiích pozorovány u Afričanů. Individuální zánětlivá reakce je dále ovlivněna polymorfizmy v genech kódujících fibrinogen, IL-1 β a inhibitor aktivátoru

plasminogenu. Tyto údaje jsou významné pro hodnocení hodnoty CRP v každodenní praxi: Jedna a táž hodnota CRP u dvou jedinců může odpovídat různé intenzitě zánětlivého procesu. (POLÁK, MATĚJOVSKÁ-KUBEŠOVÁ, 2016)

C-reaktivní protein, ateroskleróza a kardiovaskulární onemocnění:

V posledních letech byl C-reaktivní protein a jeho vysoce senzitivní forma (high sensitive C-reaktivní protein, hsCRP) snad nejvíce studován v kardiologii. Hodnoty CRP i hsCRP korelují s kardiovaskulárním rizikem, se stupněm endoteliální dysfunkce a s nedostatečnou syntézou oxidu dusnatého (NO). Hodnota CRP je nezávislým prediktorem zvýšeného rizika ischemické choroby srdeční, myokardiálního infarktu, náhlé srdeční smrti, cévní mozkové příhody, arteriální hypertenze a ischemické choroby dolních končetin. U pacientů s obezitou a vysokým kardiovaskulárním rizikem predikuje zvýšená sérová hodnota CRP rozvoj diabetes mellitus 2. typu. U pacientů se zvýšenými hodnotami CRP dochází k rychlejší progresi aterosklerózy v důsledku zvýšené proliferace monocytů, snížené aktivity tkáňového aktivátoru plasminogenu v endoteliálních buňkách a zvýšené aktivace hladké svaloviny cév. C-reaktivní protein váže modifikované i nemodifikované formy lipoproteinů o nízké hustotě (LDL). Takto vzniklé komplexy jsou poté fagocytovány makrofágy, které se účastní chronického zánětu v dysfunkčním endotelu. Značná depozita CRP byla pozorována v ložiscích myokardiální nekrózy při srdečním infarktu, dále v nervové tkáni při cévní mozkové příhodě, ale i při Alzheimerově demenci. Vyšší sérové hodnoty CRP jsou pozorovány i u kuřáků a u jedinců s chronickou periodontitidou. (POLÁK, MATĚJOVSKÁ-KUBEŠOVÁ, 2016)

C-reaktivní protein, nádorová a autoimunitní onemocnění:

U některých imunopatologických stavů jsou hodnoty CRP prakticky v normě – jedná se např. o sklerodermii, ulcerózní kolitidu, Sjögrenův syndrom, choroby štěpu proti hostiteli (graft versus host disease, GvHD) nebo leukemii. U revmatoidní artritidy, juvenilní revmatoidní artritidy, Crohnovy choroby, vaskulitid a ankylozující spondylitidy představuje CRP diagnostický i prognostický nástroj. U revmatoidní artritidy je CRP markerem aktivity onemocnění: Počet kostních erozí i roční úbytek trabekulární kostní tkáně koreluje se sérovou hodnotou CRP. Výrazně zvýšené hodnoty CRP při první atace onemocnění vykazují negativní prediktivní hodnotu pro první remisi revmatoidní artritidy. U systémového lupus erythematoses (SLE) bývají hodnoty CRP jen nesignifikantně zvýšeny v důsledku tvorby protilátek proti CRP. Zvýšené hodnoty CRP u systémového lupus erythematoses tedy zpravidla svědčí pro bakteriální infekci. C-reaktivní protein však

významně přispívá k patogenezi SLE: imunokomplexy CRP a nukleoproteinů indukují tvorbu specifických antinukleárních protilátek. U zdravých jedinců představují zvýšené hodnoty CRP riziko rozvoje nádorového onemocnění v budoucnosti. U rozvinutých nádorových onemocnění koreluje hodnota CRP s úbytkem tělesné hmotnosti, se syndromem anorexie/kachexie a s rozsahem či rekurencí onemocnění. U mnohočetného myelomu, maligního melanomu, lymfomu, karcinomu ovarií, ledvin anebo zažívacího traktu jsou zvýšené hodnoty CRP spojeny s nepříznivou prognózou. K dalším onemocněním a stavům, u nichž je pozorována zvýšená hodnota CRP, patří syndrom akutní respirační tísně dospělých (adult respiratory distress syndrome, ARDS) nebo chemická pneumonitida. Zvláštním případem je zvýšená hodnota CRP při podávání nitrožilních imunoglobulinů nebo protilátek proti T-lymfocytům.

(POLÁK, MATĚJOVSKÁ-KUBEŠOVÁ, 2016)

C-reaktivní protein a infekční onemocnění:

U virových onemocnění bývají poměrně pravidelně pozorovány hodnoty CRP do 40–50mg/l. Velmi obecně řečeno je příčinou tohoto jevu prvotní nespecifická obranná reakce organismu. Bakteriální sepsa patří mezi nejčastější příčiny úmrtí v rozvinutých zemích (5–10 % všech úmrtí/rok). Senzitivita CRP pro průkaz infekce se při hodnotách CRP nad 80 mg/l pohybuje mezi 68–93 % se specificitou 61–86 %. Při současném výskytu febrilií nad 38,2 °C dosahuje specificita takto zvýšené hodnoty CRP pro diagnostiku bakteriální infekce 100 %. U pacientů s jaterním selháním jsou logicky pozorovány nízké hodnoty CRP. U vyčerpaných jedinců a u seniorů dochází k vzestupu hodnot CRP pomaleji, což může zpočátku mitigovat závažnost situace. Výrazně zvýšené hodnoty CRP pravidelně doprovází bakteriální infekce kůže a podkožního vaziva, plicní, intraabdominální a urogenitální bakteriální infekce a abscesy. U nekomplikovaných střevních onemocnění (v našich podmínkách nejčastěji kampylobakterióza a salmonelóza) není i výrazně zvýšená hodnota CRP nutně indikací k zahájení antibiotické léčby. U malárie je CRP dobrým markerem k posouzení závažnosti a průběhu onemocnění. Mezi prediktory závažného průběhu malárie patří vysoké hodnoty CRP společně s anémií, hypoglykemií a vzestupem aktivity aminotransferáz. U viscerální leishmaniózy se CRP uplatňuje jako opsonin leishmanií; modifikuje membránu erytrocytů a brání jejich destrukci. C-reaktivní protein je zřejmě nezbytný k proměně leishmanií v amastigotní formy. Zvýšené hodnoty CRP bývají pozorovány i u systémové mykózy. U některých chronických bakteriálních infekcí je imunitní systém stimulován odlišným způsobem, a proto nebývá zvýšená hodnota CRP

přítomna (např. tuberkulóza, kapavka, lues nebo lymeská borelióza). Je vhodné zdůraznit, že prostá bakteriální kolonizace pokožky či sliznic nestimuluje syntézu reaktantů akutní fáze včetně CRP. (POLÁK, MATĚJOVSKÁ-KUBEŠOVÁ, 2016)

C-reaktivní protein a terapie antibiotiky:

V ideálním případě je antibiotická terapie indikována u jedince s klinickými známkami lokální či systémové infekce, s prokázaným bakteriálním (!) patogenem a dle výsledků antibiogramu. Volba jednotlivého preparátu pak zohledňuje další významné faktory (alergie v anamnéze, funkci ledvin a jater, farmakokinetiku daného léčiva). Ze všech výše uvedených faktů vyplývá, že indikace antibiotické léčby by nikdy neměla být založena pouze a izolovaně na zvýšené hodnotě CRP. Úlohou klinika je důkladné a individuální posouzení vyšetřovaného jedince. Pokud je terapie antibiotiky zahájena, svědčí pro její účinnost progresivní zlepšení klinického stavu (plný efekt antibiotik se rozvíjí až v odstupu 24–48 hodin!) a postupná úprava počtu leukocytů a hodnoty CRP do referenčního rozmezí. Pokud antibiotická léčba nevede během několika dnů ke zmíněnému příznivému klinickému a laboratornímu vývoji, pak je nutno systematicky vyloučit i jiné, neinfekční, příčiny daného stavu. V případě selhání původní léčby a trvání bakteriální infekce, by měl být k další léčbě zvolen preparát s jiným mechanismem účinku. V klinické praxi jsou nejčastěji využívány betalaktamy (především penicilinová antibiotika a cefalosporiny) blokující syntézu stěny bakteriální buňky; chinolonová antibiotika (inhibitory gyrázy – enzymu nutného pro syntézu nukleových kyselin); tetracykliny, makrolidy a cotrimoxazol (inhibitory proteosyntézy). V případě nadále chybějící klinické i laboratorní odpovědi na zavedenou léčbu je vhodné podávání antibiotik úplně přerušit a naprosto systematicky vyloučit veškeré možné fokusy infekce (odontogenní oblast, ORL oblast, endokarditida, plicní záněty, komplikace v intraabdominální dutině či v gynekologické oblasti, zánětlivé procesy v muskuloskeletálním systému včetně osového skeletu) a pátrat po možném autoimunitním či nádorovém onemocnění. (POLÁK, MATĚJOVSKÁ-KUBEŠOVÁ, 2016)

Referenční hodnoty:

Dospělí < 5 mg/l , Novorozenci do 3 týdnů < 4,1 mg/l, Kojenci a děti < 2,8 mg/l

Každá laboratoř by si měla ověřit, jestli pro ni platí tato referenční rozmezí a pokud je to nutné stanovit si vlastní. (BIOVENDOR, 2014)

3.5.1.2 Glykovaný hemoglobin (HbA1c)

Glykovaný hemoglobin (HbA1c) je nástroj sledování průběhu léčby diabetu mellitu. Podíl látkové koncentrace HbA1c na celkovém hemoglobinu krve je považován za rutinní a nejvíce efektivní nástroj sledování průběhu DM. Představuje nejlepší způsob kontroly koncentrací glukózy u diabetiků, neboť je považována za její vážený dlouhodobý průměr. (FRIDECKÝ, 2005)

Plná krev odebraná ze žíly, nebo kapilární krev odebraná po vpichu z prstu jsou rovnocenné materiály. Odběrové nádoby obsahují antikoagulační činidlo, obvykle EDTA. Stabilita HbA1c:

- 1 týden při 4°C
- minimálně 1 rok při -70°C a nižší teplotě

Pro skladování při -20°C se uvádějí kontroverzní literární údaje o stabilitě a nemůže být proto doporučeno. Vlivy věku, pohlaví, etnicity, ročního období nejsou považovány za významné. Hemoglobinopatie ovlivňují výsledky měření, ale nesystematicky a v závislosti na metodě měření. V případě neočekávaného výsledku je však třeba pomyslet i na ně. Záznamy chromatogramů (HPLC, LC) dávají dobrou možnost zpětné kontroly jejich výskytu. Anémie může být příčinou snížených výsledků měření. U uremických pacientů dochází ke karbamylaci hemoglobinu, která působí silné interference při měření HbA1c v závislosti na použité metodě. (FRIDECKÝ, 2005)

Glykovaný hemoglobin sice ukáže průměrnou hodnotu glykémie, ale nevypovídá o tom, zda byly glykémie vyrovnané nebo zda „lítaly“ z hyperglykémie do hypoglykémie a zpět. Diabetik s vyrovnanými glykémiami tak může mít stejný glykovaný hemoglobin jako ten, jehož glykémie se pohybují v extrémně nízkých a vysokých hodnotách. Informaci o tom, jaké hodnoty krevního cukru se za naměřeným glykovaným hemoglobinem skutečně skrývají, pomohou doplnit hodnoty měření z glukometru či senzoru kontinuální monitorace glykémie. Glykovaný hemoglobin je dlouhodobým ukazatelem a nedá se tak snadno ošálit dodržováním léčby posledních pár dní před kontrolou u lékaře. To, že se diabetik několik dnů před kontrolou opravdu snaží, nepřeváží kvalitu jeho kompenzace v předchozích týdnech. Glykovaný hemoglobin je důležité nejen změřit, ale také se zamyslet nad jeho hodnotou a dát ji do kontextu s režimem a léčbou v posledních několika týdnech a

měsících.

Pokud se hodnota glykovaného hemoglobinu výrazně liší od glykemií zachycených na glukometru, může být ovlivněná nepoznanými hyperglykemiemi a hypoglykemiemi. V jejich vysvětlení může pomoci například změření glykemií po jídle či glykémie v noci a časných ranních hodinách. (PICKOVÁ, 2013)

3.5.1.2.1 Jednotky pro vyjádření výsledků

Nová jednotka dle IFCC pro vyjadřování výsledků měření glykovaného hemoglobinu HbA1c je mmol/mol. Připouští se tedy vyjadřování výsledků měření jen v jednotkách mmol/mol (mmol glykovaného hemoglobinu HbA1c na mol celkového hemoglobinu). Jiné vyjadřování výsledků je v rozporu s řádnou metrologickou návazností tohoto stanovení na referenční systém IFCC. Technicky je aplikace tohoto doporučení již zajištěna všemi výrobci a dodavateli prostředků IVD v souladu s doporučením IFCC a dalších mezinárodních organizací.

Starší, odvozená jednotka % NGSP/DCCT zůstává i nadále v platnosti a používá se zejména v USA. V ČR tato jednotka není rutinně používána od 1.1.2004

Přepočtové vztahy pro jiné jednotky:

Přepočet z jednotky % IFCC na jednotku mmol/mol:

$$X_{\text{mmol/mol}} = 10 \cdot X_{\% \text{IFCC}}$$

Přepočet z jednotky % NGSP/DCCT na jednotku mmol/mol:

$$X_{\text{mmol/mol}} = (X_{\% \text{NGSP/DCCT}} - 2,152) / 0,9148$$

Referenční interval:

Referenční interval pro zdravou dospělou populaci (95% interval): 20 až 42 mmol/mol.

Rozhodovací meze: Kompenzovaný diabetes: 43 – 53 mmol/mol (FRIDECKÝ, 2012)

Koncentrace HbA1c v krvi je považována za rutinní a nejvíce efektivní nástroj sledování průběhu DM. Hodnota glykovaného hemoglobinu je možno použít v rámci screeningu poruch glukózové homeostázy, zejména ve vztahu k prediabetu. (FRIDECKÝ, 2012)

Česká diabetologická společnost uveřejnila a svých webových stránkách jednoduchou online kalkulačku umožňující přepočet mezi jednotlivými jednotkami. (ČDS ČLS JEP, 2017)

3.5.2 Specifikace použitých analyzátorů, verifikace metod v akreditované laboratoři

Pro tuto práci jsme použili následující analyzátory:

Pro rutinní metody v akreditované laboratoři:

Mindray BS-400 – měřený parametr CRP

Arkray Inc. HA-8160 ADAMS A1c – měřený parametr HbA1c

Pro POCT metody:

tester Wondfo Finecare II FIA Meter - parametr CRP a parametr HbA1c

Jelikož byly analýzy prováděny v akreditované analytické laboratoři, veškeré metody pro rutinní provoz musí být zde kontinuálně verifikovány a zajištěna návaznost na mezinárodní standard.

Součástí akreditačního procesu v klinické laboratoři je také provádět dle přijatých zásad pravidelnou verifikaci metod uvedených v akreditační příloze subjektu. Tato činnost zahrnuje sběr kontrolních dat, grafickou dokumentaci, výpočty, výběr a tvorbu kontrol a výsledné zhodnocení aktuální použitelnosti analytické metody v klinické praxi. Tento proces je nezbytné nejméně jednou do roka opakovat a výsledky trvale archivovat. (SLONKA, 2014)

Verifikace je poskytnutí objektivního důkazu, že určitá metoda splňuje dané požadavky. Tedy, že jsou dosaženy hodnoty, které určí jiná laboratoř či instituce. Prokázání splnění požadavků na měřicí systém a jejich potvrzení se děje pomocí objektivních důkazů. Pojem verifikace se používá pro ověření, zda je laboratoř schopna dosáhnout v již validovaných metodách deklarovanou výkonnost metody. Prokazuje způsobilost, že lidský faktor, přístroje a prostředí jsou v dostatečně příznivém vztahu k výsledkům získaných daným měřicím postupem. V klinických laboratořích se většinou verifikují všechny akreditované metody, postupy měření a přípravy činidel. Cílem je poskytnout objektivní důkaz, že laboratoř je schopna dosáhnout v měření požadovaných znaků metody, jak bylo stanoveno výrobcem. Laboratoř je povinna verifikovat i metody, u kterých sama provedla vstupní validaci. Verifikace obsahuje stanovení opakovatelnosti (repeatability), mezilehlé přesnosti

(intermediate precision), vychýlení (BIAS), odhad nejistot (uncertainty) metody za provozovaných podmínek. (SLONKA, 2014)

Opakovatelnost se stanoví analýzou referenčních materiálů. Cílem je kvantifikace náhodné chyby měření v sérii. Obecně se využívají přednostně vzorky z programů interní či externí kontroly kvality. (SLONKA, 2014)

Mezilehlá preciznost se většinou prakticky zjišťuje z výsledků interní kontroly kvality. Doporučuje se období dvou až tří měsíců vždy s využitím jedné šarže kalibrátorů a kontrolních materiálů. Používají se dvě až tři různé koncentrace analytů. Do výpočtu mezilehlé preciznosti se nezahrnují odlehlé výsledky, které je nutno ze zpracovaného souboru statisticky vyloučit. Tyto odlehlé hodnoty se stanoví pomocí Westgardova pravidla. Je vhodné použít i testy pro detekci systematické, náhodné chyby pomocí Studentova testu. (SLONKA, 2014)

Vychýlení (BIAS). Cílem je odhad systematické chyby měření pomocí analýzy referenčního materiálu s deklarovanou hodnotou. K provedení tohoto odhadu je nutný dostatečný počet opakovaných měření (alespoň deset). Hodnotou BIAS dokumentujeme stav návaznosti měření v laboratoři. Vhodným materiálem je certifikovaný materiál (CRM), pokud není dostupný lze využít porovnání výsledků s jinou laboratoří, která využívá stejné kontrolní materiály. (SLONKA, 2014)

Nejistota měření. Nejistota je parametr, který charakterizuje rozptýlení hodnot naměřené veličiny. Nejistota vymezuje rozsah, v němž jsou výsledky s určitou pravděpodobností považovány za správné a přesné. Nejistota obsahuje řadu složek. Některé z nich lze najít u příbalových letáků, jiné je nutno odhadnout z dat získaných zkušeností nebo jiných informací. Dle ISO 15189 laboratoř musí vypočítat nejistotu měření u každé metody, která poskytuje měřené veličiny u vzorků pacientů. (SLONKA, 2014)

Vzorové protokoly verifikace použitých metod jsou součástí přílohy této práce.

3.5.2.1 Mindray BS-400

3.5.2.1.1 Popis přístroje

Mindray BS-400 je volně stojící plně automatizovaný biochemický analyzátor určený pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích. Je vhodný pro střední laboratoře nebo jako doplňkový systém k velkým analyzátorům pro statimové analýzy. Umožňuje kvantitativní stanovení analytů v séru, plazmě, moči a mozkomíšním moku. Pracuje na principu absorpční fotometrie, turbidimetrie a ISE. Fotometrický systém analyzátoru může měřit absorbance 9 kyvet současně při vlnových délkách v rozmezí 340-800 nm. Systém je schopen provést až 400 fotometrických testů za hodinu, s ISE až 640 testů za hodinu.



Obázek 3: Mindray BS-400

Vzorkový kruh s 90 pozicemi ve třech kruzích po 30 pozicích

- obsahuje 10 pozic pro statimové vzorky, 10 pozic pro kalibrátory
- 5 pozic pro kontroly a pozice pro diluent pro moče, mycí roztoky a destilovanou vodu
- umožňuje použití primárních zkumavek
- lze do něho vložit až 16 typů různých zkumavek

- možnost připojení ruční externí nebo zabudované interní čtečky čárového kódu kompatibilních s Code 39, Code 128, Codebar (2 z 5), UPC/EAN, Code 93
- automatické ředění abnormálních vzorků až do poměru 1:150
- možnost kdykoliv vložit statimový vzorek

Multifunkční dávkovač vzorků

- automatické promývání jehly minimalizuje riziko kontaminace
- po napipetování vzorku nebo reagensie se jehla přesune nad mycí stanici k omytí
- vzorková stříkačka může nasávat/ přenášet 2-45 µl vzorku, krok po 0,1 µl

Chlazený reagenční kruh s 80 pozicemi ve dvou kruzích

- chladnička reagenčního kruhu může být v provozu 24h denně při teplotě 4-10°C
- lze k němu připojit volitelnou čtečku čárové kódů pro reagensie
- pro pipetování reagensií používá analyzátor dva samostatné dávkovače
- jeden je určen pro R1/R3 a druhý pro R2/R4
- pipetovaný objem se pohybuje v rozmezí 20-350 µl reagensie, její minimální množství je 1 µl
- v mycí stanici dochází k omytí interiéru i exteriéru reagenční jehly kyselým a alkalickým mycím roztokem
- všechny dávkovače reagensií nebo vzorků jsou automaticky promývány a jsou chráněny několika bezpečnostními prvky detekce sraženiny, detekce hladiny a ochranou proti nárazu

Fotometrický systém

- používá jako zdroj záření halogen-wolframovou lampu
- 9 optických drah se stálými interferenčními filtry
- 12 fixních vlnových délek: 340, 380, 412, 450, 505, 546, 570, 605, 660, 700, 740 a 800 nm
- reakční kruh s 90 plastovými kyvetami k opakovanému použití a termostatem
- teplota komory drží na $37 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ s kolísáním $0,01^{\circ}\text{C}$
- kyvety jsou automaticky testovány proti blanku

- je-li přesáhnut limit blanku u více jak poloviny z 90 kyvet, systém vyzve uživatele ke spuštění mycího programu nebo k jejich výměně
- rozměr jedné kyvety je 5 x 6 x 30 mm- 5 mm optická dráha, objem 750 μ l
- objem reakční směsi v kyvetě je 100-360 μ l
- po každém ukončení měření je kyveta automaticky promyta v 8 krokovém cyklu, vysušena a připravena pro další použití

Volitelná ISE jednotka

- může měřit Li⁺, Na⁺, K⁺, Cl⁻ nebo Na⁺, K⁺, Cl⁻ v séru, plazmě nebo 10x ředěné moči
- objem séra pro měření všech tří vzorků je 70 μ l, objem ředěné moči 140 μ l
- s výkonem až 320 testů za hodinu

Operační SW

- umožňuje kontinuální kontrolu stavu systému, kontrolu reagenčního a vzorkového kruhu, objemu reagensů a reakční teploty
- možnost monitoringu reakčních křivek
- možnost oboustranného připojení do LISu - komunikační port: RS-232
- spotřeba destilované vody: 20 l/hod.
- reakční teplota: $37 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$
- rozměry: 1180 x 700 x 1145 mm (š x h x v)
- hmotnost: 300 kg
- napájecí napětí: nebo 220 ?230 V, 60 Hz, 1500 VA
- provozní teplota, vlhkost: 15-30 $^{\circ}\text{C}$, 35-80%

3.5.2.2 Arkray Inc. HA-8160 ADAMS A1c

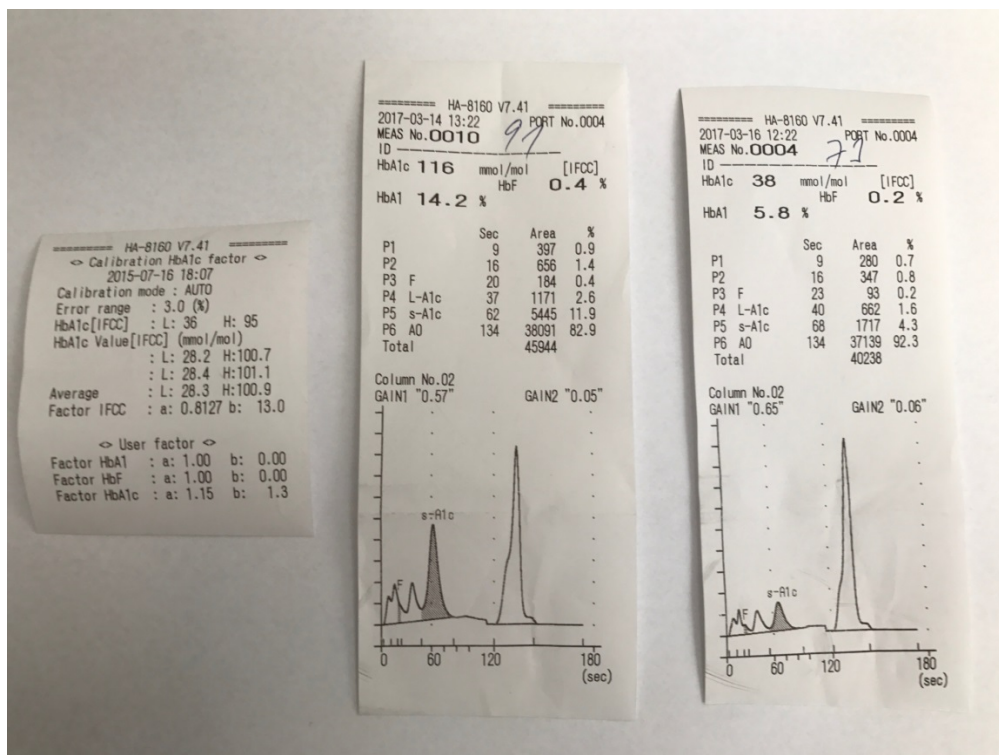
3.5.2.2.1 Popis přístroje

Plně automatický analyzátor glykovaného hemoglobinu metodou HPLC.



Obrázek 4: Arkray Inc. HA-8160 ADAMS A1c : Přístroj

- doba měření jednoho vzorku je 2,9 min., podavač na 50 vzorků, statimový port, “cap-piercing“ systém
- měření z primárních zkumavek nebo keřů, potřebné množství vzorku 4ul (plná krev nebo hemolyzát)
- měřené parametry: HbA1c, HbA1, HbA1F, HbA2
- automatická kalibrace
- integrovaná termotiskárna a čtečka čárových kódů
- paměť na 500 výsledků
- přenos výsledků do PC (RS-232), možnost napojení na LIS
- snadná údržba a výměna spotřebního materiálu
- rozměry: 530 x 530 x 530mm, váha 39 kg (MEDISTA, 2017)

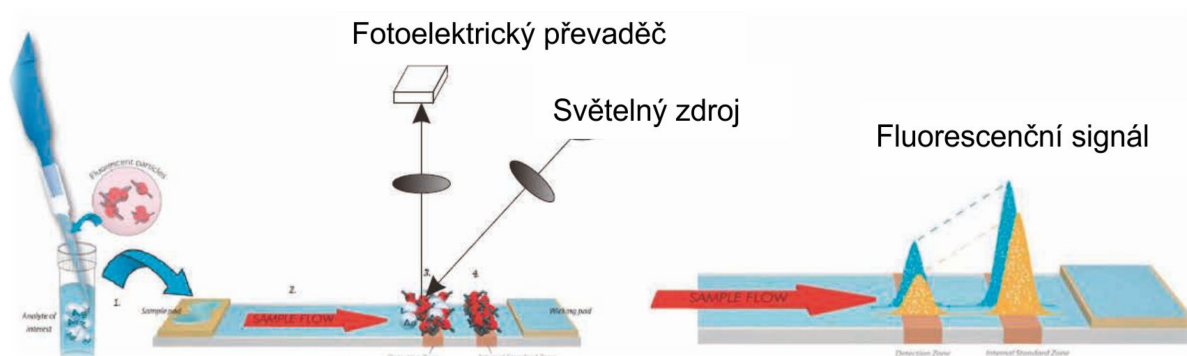


Obrázek 5: Arkay Inc. HA-8160 ADAMS A1c : Tiskové výstupy kalibrace a reálných vzorků

3.5.2.3 Wondfo Finecare II FIA Meter – model FS-112

3.5.2.3.1 Popis přístroje

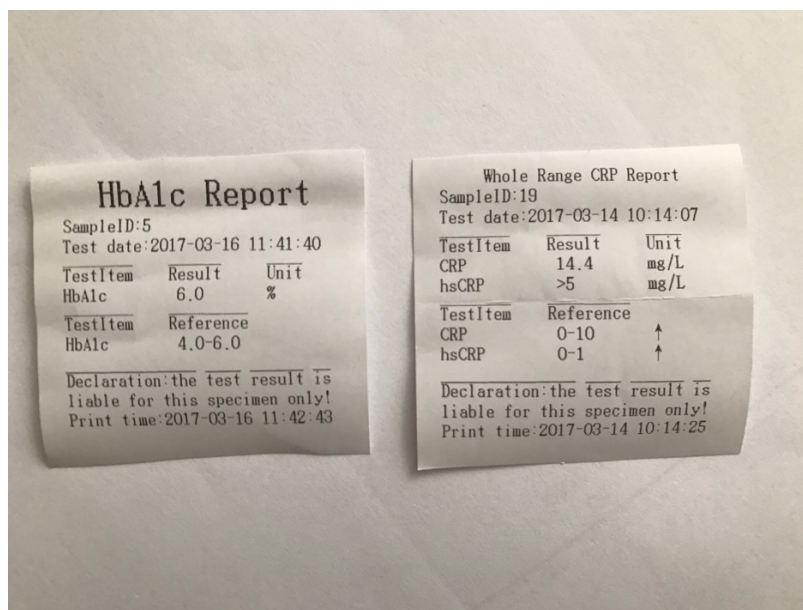
Finecare II FIA Meter vyráběný firmou Guangzhou Wondfo Biotech Co., Ltd. je přenosné zařízení používající fluorescenční detekci pro kvantifikaci koncentrace různých druhů analytů v lidské krvi nebo moči. Toto zařízení je určeno pro diagnostické použití in vitro.



Obrázek 6: Princip fluorescenční detekce (WONDFO, 2016)



Obrázek 7: Wondfo Finecare II FIA Meter: Přístroj



Obrázek 8: Wondfo Finecare II FIA Meter: tiskový výstup měření HbA1c a CRP

3.5.2.3.2 Postup měření CRP

CRP test je založen na fluorescenční imunoanalytické technice. CRP test používá sendvičovou imunodetekční metodu, kdy se detekční pufr smíchá v testovací lahvičce se vzorkem krve. Pufr obsahuje fluoresceinem značenou detektorovou anti-CRP protilátku, která se váže na CRP antigen ze vzorku krve. Jakmile je směs vzorku vložena do jamky pro vzorek v testovací kazetě, pohybuje se nitrocelulózovou matricí testovacího proužku pomocí kapilárního jevu, komplexy detektorové protilátky a CRP jsou zachyceny ke druhé sendvičové anti-CRP protilátce, která je imobilizována v testovacím proužku. Čím více je CRP antigenu ve vzorku krve, tím více komplexů je akumulováno v testovacím proužku. Intenzita signálu fluorescence detektorové protilátky odráží množství zachyceného CRP a přes mikroprocesor se zobrazuje koncentrace CRP ve vzorku krve. (WONDFO, 2016)

CRP testovací set se skládá z testovací kazety, kapiláry na odběr krve a detektorového pufru. Testovací kazeta je balena jednotlivě v sáčku z hliníkové folie s desikantem a kapiláry na odběr krve jsou zabaleny v plastovém sáčku. Detekční pufr je balen a odděleně od testovací kazety a kapilár. (WONDFO, 2016)

Testovací kazeta obsahuje testovací proužek s imobilizovanou myší monoklonální protilátkou proti lidskému CRP a kontrolní proužek s imobilizovaným králičím IgG. Detekční pufr obsahuje fluoresceinem značenou anti-CRP protilátku (myší monoklonální), fluoresceinem značenou anti-králičí IgG protilátku, BSA, stabilizátor a azid sodný jako konzervační činidlo. Kapilára pro odběr krve se používá pro přenesení 8,5 mikrolitrů kapilární plné krve, případně se přenesou 5 mikrolitrů plazmy nebo séra pomocí pipety do nádobky s pufrem. Následně (po minutovém promíchání) do testovací kazety se pomocí pipety přenesou 75 mikrolitrů směsi (WONDFO, 2016)

Koncentrace	Klinický obraz
<1.0 mg/l	Nízké riziko CVD (bez zánětu)
1.0-3.0 mg/l	Mírné riziko CVD (bez zánětu)
>3,0 mg/l	Vyšší CVD riziko (bez zánětu)
>10 mg/l	Možná infekce (bakteriální nebo virová)
10-20 mg/l	Většinou indikuje virovou infekci nebo mírnou bakteriální infekci

20-50 mg/l	Většinou indikuje mírnou bakteriální infekci
>50 mg/l	Většinou indikuje vážnou virovou infekci

(WONDFO, 2016)

3.5.2.3.3 Postup měření HbA1c

HbA1c test je také založen na fluorescenční imunoanalytické technice. HbA1c test používá sendvičovou imunodetekční metodu, kdy se detekční pufr smíchá v testovací lahvičce se vzorkem krve. Pufr obsahuje fluoresceinem značenou detektorovou HbA1c protilátku, která se váže na HbA1c ve vzorku. Jakmile je směs vzorku vložena do jamky pro vzorek v testovací kazetě, pohybuje se nitrocelulózovou matricí testovacího proužku pomocí kapilárního jevu, komplexy detektorové protilátky a HbA1c jsou zachyceny ke druhé sendvičové HbA1c protilátce, která je imobilizována v testovacím proužku. Fluorescenčně značená detektorová Hb protilátka se naváže na Hb ve vzorku krve, komplexy jsou zachyceny Hb protilátkou která je imobilizována v testovacím proužku. Intenzita signálu fluorescence odráží množství koncentrace HbA1c a Hb ve vzorku. Poměr mezi signály HbA1c a Hb pak odpovídají poměrům mezi HbA1c a Hb. (WONDFO, 2016)

HbA1c testovací set se skládá z testovací kazety, kapiláry na odběr krve a detektorového pufru. Testovací kazeta je balena jednotlivě v sáčku z hliníkové folie s desikantem a kapiláry na odběr krve jsou zabaleny v plastovém sáčku. Detekční pufr je balen současně s testovacími kazetami a kapilárami. (WONDFO, 2016)

Kapilára pro odběr krve se používá pro přenesení 10 mikrolitrů plné krve do nádobky s pufrem. Následně se (po minutovém promíchání) aplikuje 75 mikrolitrů směsi do testovací kazety (WONDFO, 2016)

Normální referenční rozmezí: <65 % (WONDFO, 2016)

Pro přepočítání z jednotky % NGSP/DCCT na jednotku mmol/mol jsme použili vzorec dle Doporučení výboru ČSKB:

$$X_{\text{mmol/mol}} = (X_{\% \text{NGSP/DCCT}} - 2,152) / 0,9148 \quad (\text{FRIEDECKÝ, 2012})$$

Tento vzorec jsme dosadili do programu Excel a při zápisu hodnot z měření se tak daly ihned porovnávat obě metody tj. aby výsledky byly ve shodných jednotkách.

3.6 Porovnání naměřených dat

Vzhledem k velkým kvalitativním rozdílům naměřených výsledků a omezenému počtu analýz bylo upuštěno od běžného statistického hodnocení.

Ke zpracování a vyhodnocení získaných dat jsme proto použili jen omezené statistické nástroje, zejména s využitím následujících programů, Microsoft Office Excel for Mac a program Curve Expert.

Jen k porovnání statistických parametrů a popisu zjištěných méně významných rozdílů mezi dvěma skupinami výsledků získaných z jednotlivých přístrojů jsme použili metodu korelace ke zjištění korelačního koeficientu i demonstraci v grafickému znázornění.

Zpracování grafů provedeno v programech CurveExpert a Excel. Pro záznam dat a jejich přípravu byl použit MS Office Excel for Mac. (CURVEEXPERT, 2017). (MICROSOFT, 2017)

3.6.1 Korelace

Předpokládejme, že náhodně vybereme n objektů (nebo osob) ze zkoumané populace. Často se stává, že na každém z objektů měříme ne pouze jednu, ale několik kvantitativních proměnných. Uvažujme tedy pár takovýchto proměnných, mohlo by být zajímavé zjistit, zda mezi nimi existuje lineární vztah; tedy zjistit, jestli jsou korelované.

Typy korelace bychom mohli kategorizovat podle toho, co se stane s první proměnnou, když druhá poroste:

- Kladná korelace – první proměnná má tendenci také růst;
- Záporná korelace – první proměnná má tendenci klesat;
- Nulová korelace – první proměnná nemá tendenci ani růst, ani klesat.

Začátkem každé takové analýzy by tedy měla být konstrukce a následné prozkoumání bodového grafu. Následují příklady záporné, nulové a kladné korelace. (KRÁLOVÁ *et al.*, 2016)

4. VÝSLEDKY

4.1 Stanovení koncentrace CRP

Souprava neobsahuje kalibrátory, kontroly ani adjustory, které by mohly být v ordinaci použité k ověření deklarované hodnoty. Pouze pro každé balení testovacích kazet je přiložen konkrétní id čip odpovídající tomuto balení. Z těchto příčin byla provedena měření jen laboratorních kalibrátorů (tabulka 8) a kontrol (tabulka 9). Výsledek jejich měření na testeru nebyl ve všech případech zcela přesvědčivý a může být způsoben rozdílným odečtem matrice těchto materiálů. U lidských vzorků z denního provozu byla naměřena větší míra porovnatelnosti.

Pro ověření použitelnosti kalibrátorů BioVendor pro stanovení CRP na testeru byla duplicitně (n=2) provedena měření na koncentračních hladinách K1 až K5, 9,61 mg/ml až 284mg/ml (tabulka)

Tabulka 8 : Naměřené hodnoty CRP kalibrátorů (n=2)

CRP Kalibrátory		1. měření	2. měření
BioVendor		Wondfo Finecare	Wondfo Finecare
Označení	deklarovaná hodnota mg/l	naměřená hodnota mg/l	naměřená hodnota mg/l
K1	9,61	16,2	30
K2	20,1	9,2	24,3
K3	56	27,1	38,4
K4	148	67,7	99,7
K5	284	40,2	179.9

Správnost naměřených hodnot koncentrace CRP byla testována za použití kontrolního prostředku používaného v laboratoři a označeného jako BUL 1 a BUL 2.

Tabulka 9: Naměřené hodnoty u kontrol (n=1)

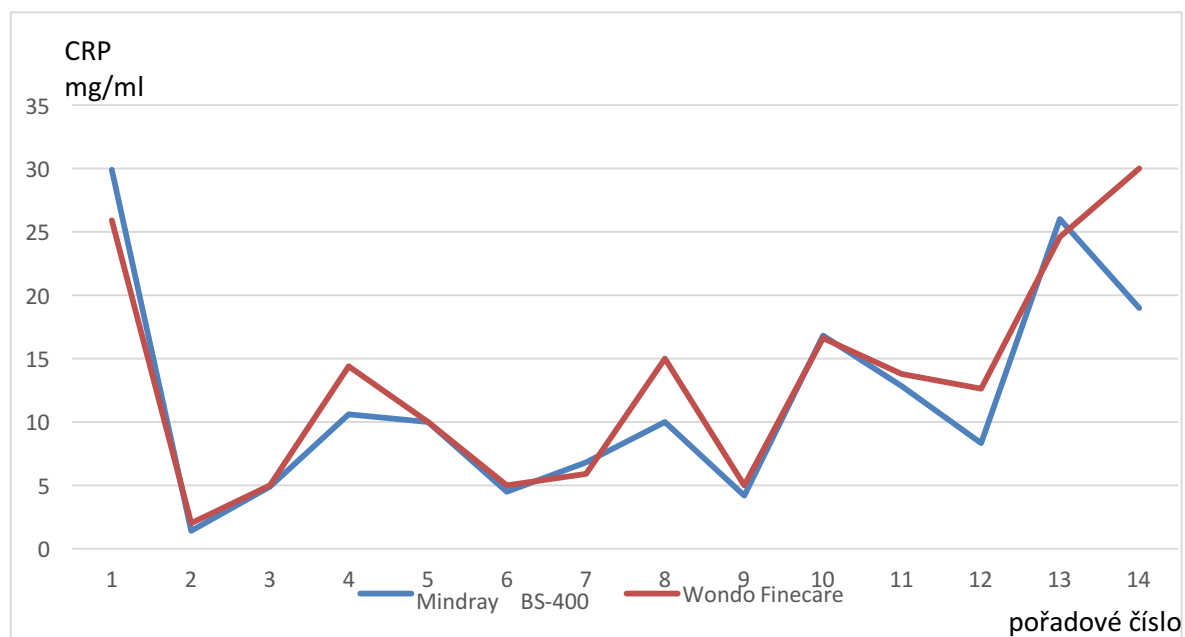
CRP Kontroly		
	Mindray BS-401	Wondfo Finecare
Označení	naměřená hodnota mg/l	naměřená hodnota mg/l
BUL 1	14,2	15,3
BUL 2	79,5	122,7

Koncentrace C-reaktivního proteinu byly dále stanoveny u 14 vybraných pacientů v několika sériích v průběhu jednoho týdne. Hodnoty naměřené v laboratoři se nacházely v intervalu 1,4 až 29,9 mg/l, takže pokrývaly jak nízké hodnoty odpovídající zdravým pacientům, tak i hodnoty vyšší, odrážející zánětlivý stav. Měření bylo provedeno simultánně, nejprve bylo měření provedeno na Mindray BS-400 a následně na POCT testeru Wondfo Finecare.

Tabulka 10 : Naměřená data parametru CRP mg/ml.

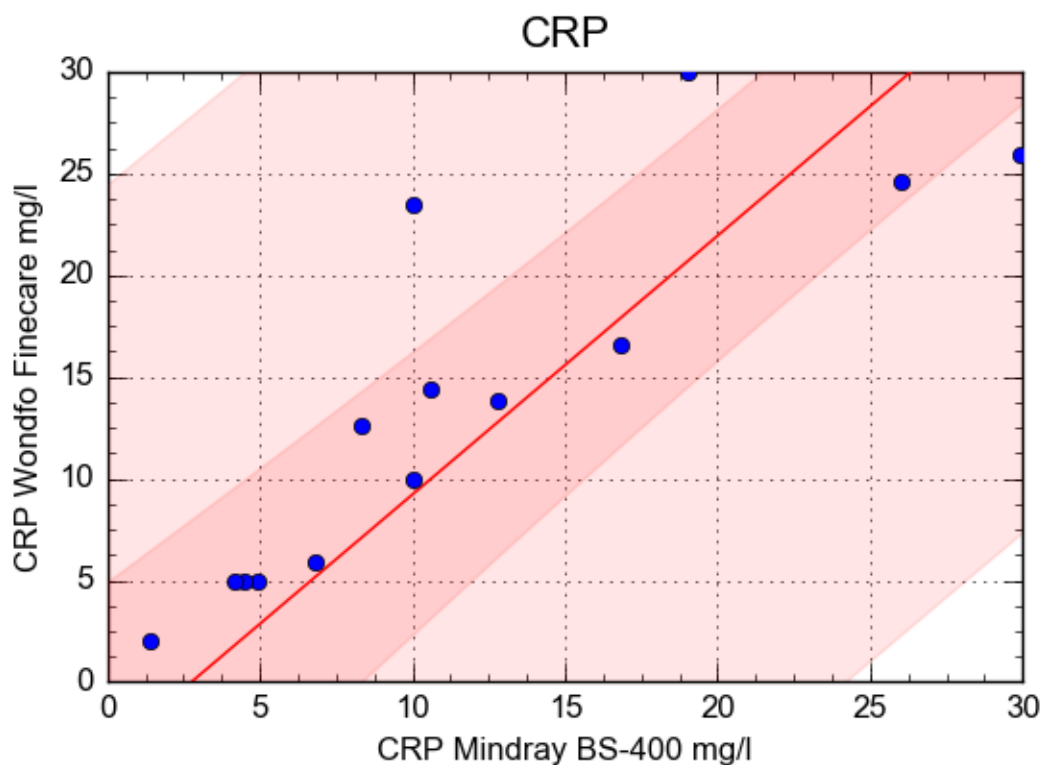
Pořadové číslo měření	Datum	Číslo vzorku	Mindray BS-400	Wondfo Finecare
1	10.3.	11	29,9	25,9
2	10.3.	29	1,4	2
3	10.3.	41	4,9	5
4	10.3.	53	10,6	14,4
5	10.3.	9	10	10
6	10.3.	19	4,5	5
7	10.3.	47	6,8	5,9
8	10.3.	31	10	15
9	10.3.	63	4,2	5
10	13.3.	11	16,8	16,6
11	13.3.	44	12,8	13,8
12	13.3.	53	8,3	12,6
13	15.3.	72	26	24,6
14	15.3.	13	19	30

Graf znázorňuje rozsah naměřených hodnot CRP v mg/ml. (osa x – pořadové číslo, osa y – naměřená hodnota koncentrace CRP v mg/ml na přístrojích Wondfo Finecare a Mindray BS-400)



Graf 6: Naměřené hodnoty CRP v mg/ml na analyzátorech Mindray BS-400 a testeru Wondfo Finecare

Programem CurveExpert jsme testovali korelační závislost stanovení CRP na přístrojích Wondfo Finecare a Mindray BS-400. Nejlepší korelaci vykazovala lineární funkční závislost. V grafu číslo 7 jsme použili k vyhodnocení soubor všech naměřených hodnot CRP.



Graf 7: Naměřené hodnoty koncentrací CRP, osa x: Mindray BS-400, osa y: Wondfo Finecare

Použitý program CurveExpert nabízí škálu parametrů získaných vyhodnocením testovaných naměřených hodnot koncentrací analytu, v tomto případě například koncentrací CRP a umožňuje přehledné statistické zhodnocení výsledků a jejich korelací mezi testovanými přístroji (Obrázek 9)

Overview

Name	Linear
Kind	Regression
Family	Linear Regressions
Equation	$y = a + b \cdot x$
# of Indep. Vars	1
Weighting	Default
Standard Error	12.6246355485
Correlation Coeff. (r)	0.939330
Coeff. of Determination (r^2)	0.882341202738
DOF	17
AICC	96.476711

Parameters

	Value	Std Err	Range (95% confidence)
a	-3.510623	3.966532	-11.879273 to 4.858027
b	1.272771	0.112725	1.034942 to 1.510600

Covariance Matrix

	a	b
a	0.098715	-0.001917
b	-0.001917	0.000080

Obrázek 9: Výstup z programu CurveExpert pro stanovení CRP na testovaných přístrojích

4.2 Stanovení HbA1c

Souprava neobsahuje kalibrátory, kontroly ani adjustory, které by mohly být v ordinaci použité k ověření deklarované hodnoty. Pouze pro každé balení testovacích kazet je přiložen konkrétní id čip odpovídající tomuto balení. Z těchto příčin byla provedena měření jen laboratorních kalibrátorů (tabulka 11) a kontrol (tabulka 12 a 13). Výsledek jejich měření na testeru nebyl ve všech případech zcela přesvědčivý a může být způsoben rozdílným odečtem matrice těchto materiálů. U lidských vzorků z denního provozu byla naměřena větší míra porovnatelnosti.

Byly testovány firemní kalibrátory na dvou koncentračních hladinách. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 11.

Tabulka 11: Naměřené hodnoty koncentrací kalibrátoru Arkray HbA1c v mmol/mol (n=1)

		HA 8161	Wondfo Finecare
Kalibrátory	deklarovaná hodnota IFCC mmol/mol	naměřená hodnota IFCC mmol/mol	naměřená hodnota IFCC mmol/mol
Calibrator Low	36	28	41
Calibrator High	95	101	102

Jako kontrolní prostředky byly testovány materiály používané pro denní kontrolu kvality firmy Bio-Rad Lab. Lyphochek (Diabetes Control) a materiály externí kontroly kvality z kontrolních cyklů RfB Německo.

Tabulka 12 : Naměřené hodnoty koncentrací HbA1c v mmol/mol (n=2), Bio-Rad Lab. Lyphocheck (Diabetes Control)

Kontroly			1. měření	2. měření
Bio-Rad Lab.		HA 8161	Wondfo Finecare	Wondfo Finecare
Označení	deklarovaná hodnota IFCC mmol/mol	naměřená hodnota IFCC mmol/mol	naměřená hodnota IFCC mmol/mol	naměřená hodnota IFCC mmol/mol
1	39	39	41,6	42,6
2	82	84	78,2	74,7

Tabulka 13: Naměřené hodnoty koncentrací HbA1c v mmol/mol (n=1), RfB Německo

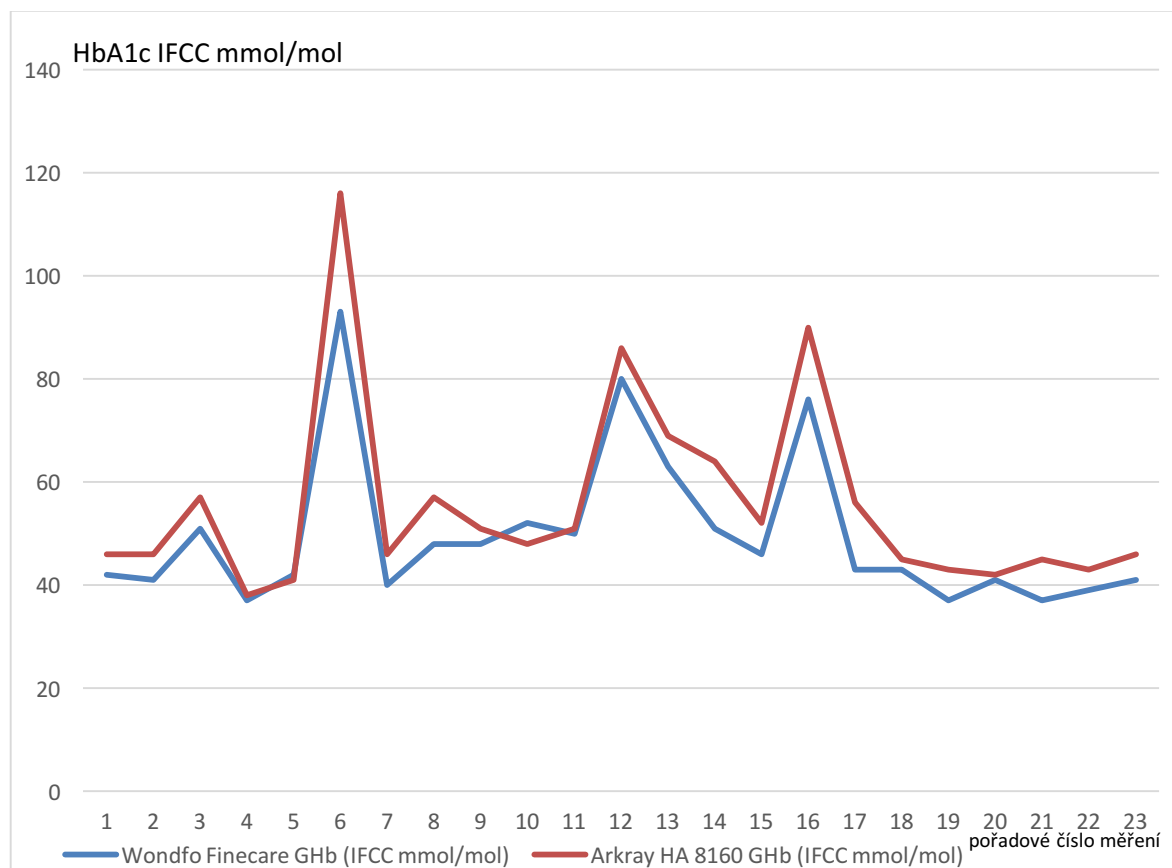
Kontroly			
RfB		Arkray HA 8160	Wondfo Finecare
Označení	deklarovaná hodnota IFCC mmol/mol	naměřená hodnota IFCC mmol/mol	naměřená hodnota IFCC mmol/mol
4/16B	37,7	39	45
2/16A	46,8	48	52
4/16A	97,4	97	98

Koncentrace HbA1c byly dále stanoveny v několika sériích v průběhu pěti dnů u vybraných pacientů (n=23). Hodnoty se nacházely v intervalu 38 až 116 mmol/mol, tím byl zcela pokryt interval normálních a patologických hodnot odpovídajících jak zdravým pacientům, tak i hodnoty vyšší, odrážející aktuální patologický zdravotní stav pacienta. Měření bylo provedeno simultánně, nejprve na analyzátoru japonské firmy Arkray Inc., HA-8160 ADAMS A1c a následně na POCT testeru Wondfo Finecare.

Tabulka 14 : Naměřená data parametru HbA1c u pacientů

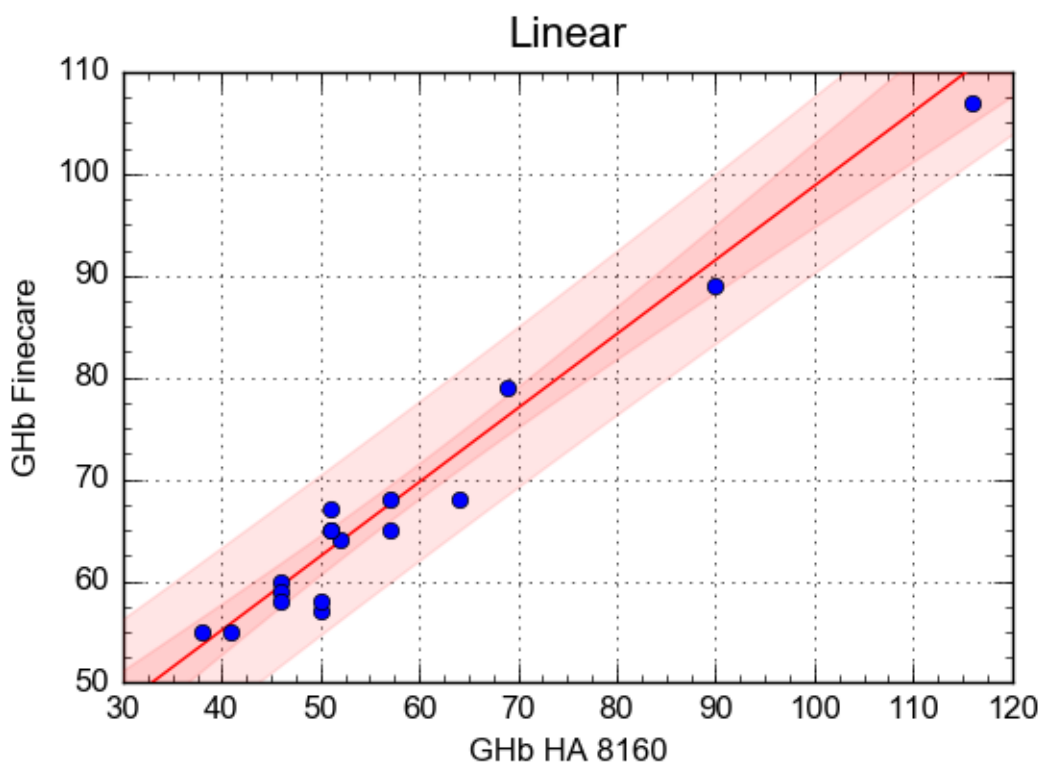
Pořadové číslo měření	Datum	číslo vzorku	HA 8160 GHb (IFCC mmol/mol)	Finecare GHb (IFCC mmol/mol)
1	14.3	5	46	42
2	14.3	60	46	41
3	10.3	5	57	51
4	13.3	12	38	37
5	14.3	84	41	42
6	10.3	49	116	93
7	10.3	78	46	40
8	10.3	71	57	48
9	15.3	55	51	48
10	16.3	5	48	52
11	16.3	25	51	50
12	16.3	47	86	80
13	16.3	91	69	63
14	16.3	98	64	51
15	16.3	33	52	46
16	16.3	38	90	76
17	16.3	41	56	43
18	20.3	14	45	43
19	20.3	18	43	37
20	20.3	28	42	41
21	20.3	72	45	37
22	20.3	7	43	39
23	20.3	59	46	41

Graf znázorňuje rozsah naměřených hodnot HbA1c v mmol/mol. (osa x – pořadové číslo vzorku, osa y – naměřená hodnota koncentrace HbA1c v mmol/mol na přístrojích Wondfo Finecare a Arkray HA 8160)



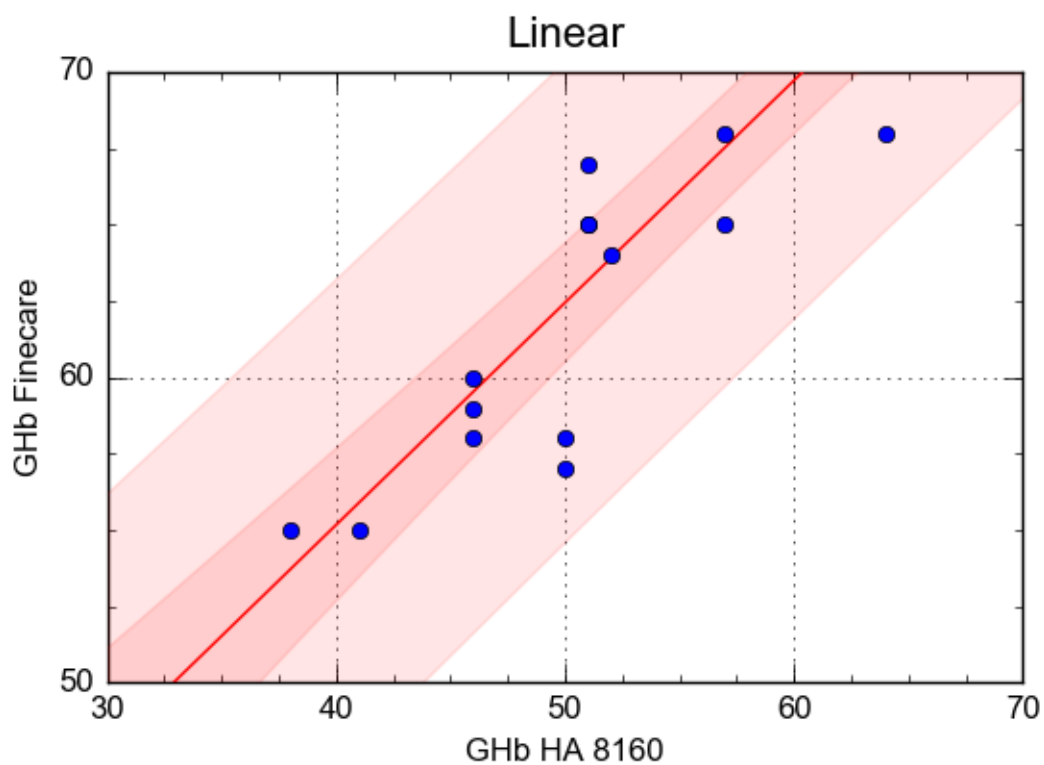
Graf 8: Naměřené hodnoty HbA1c v mmol/mol na analyzátorech Arkray HA-8160 a testeru Wondfo Finecare

Programem CurveExpert jsme testovali korelační závislost stanovení HbA1c reálných vzorků pacientů na přístrojích Arkray HA-8160 a Wondfo Finecare. Přijatelnou se jeví lineární funkční závislost hodnot nalezených na obou přístrojích. V grafu číslo 11 jsme použili k vyhodnocení soubor všech naměřených hodnot HbA1c.



Graf 9: Naměřené hodnoty koncentrací HbA1c (IFCC mmol/mol), osa x: Arkray HA-8160, osa y: Wondfo Finecare

Programem CurveExpert jsme testovali korelační závislost stanovení HbA1c reálných vzorků pacientů na přístrojích Arkray HA-8160 a Wondfo Finecare. Přijatelnou se jeví lineární funkční závislost hodnot nalezených na obou přístrojích. V grafu číslo 12 jsme použili k vyhodnocení soubor všech naměřených hodnot v intervalu 30 až 70 mmol/mol.



Graf 10: Naměřené hodnoty koncentrací HbA1c (IFCC mmol/mol), osa x: Arkray HA-8160, osa y: Wondfo Finecare

Použitý program CurveExpert nabízí škálu parametrů získaných vyhodnocením testovaných naměřených hodnot koncentrací analytu. V tomto případě například koncentrací HbA1c a umožňuje přehledné statistické zhodnocení výsledků a jejich korelací mezi testovanými přístroji (Obrázek 10)

Overview

Name	Linear
Kind	Regression
Family	Linear Regressions
Equation	$y = a + b \cdot x$
# of Indep. Vars	1
Weighting	Default
Standard Error	3.73790906677
Correlation Coeff. (r)	0.969069
Coeff. of Determination (r^2)	0.939094432371
DOF	21
AICC	60.750339

Parameters

	Value	Std Err	Range (95% confidence)
a	7.132002	2.485904	1.962282 to 12.301722
b	0.764448	0.042483	0.676100 to 0.852795

Covariance Matrix

	a	b
a	0.442294	-0.007177
b	-0.007177	0.000129

Obrázek 10: Výstup z programu CurveExpert pro stanovení HbA1c na testovaných přístrojích

5. DISKUZE

Hlavním cílem této práce bylo posoudit, zda existuje shoda mezi výsledky získanými měřením v POCT režimu a analýzou v akreditované laboratoři. Pro zajištění tohoto cíle bylo nutno seznámit se s aktuálním stavem této technologie a jejím využití v běžné praxi. Zjistili jsme, že v posledních letech dochází k masivnímu rozvoji a miniaturizaci POCT přístrojů. Rozšiřuje se také spektrum parametrů, které jsou nyní v tomto režimu měřitelné. Samostatnou kategorií by mohly být přístroje používané pro tzv. self-monitoring, například glukometry, jimiž jsou vybaveni pacienti s diagnózou diabetes melitus, případně glukometry použité přímo na lůžkových odděleních nemocnic. V naší práci jsme se zaměřili na POCT zařízení, jež jsou využitelná v ordinacích praktických lékařů či lékařů specialistů. Při zpracování literárního přehledu bylo prokázáno, že mezi časté parametry, které tito lékaři využívají, nebo by rádi využívali, jsou: C-reaktivní protein využitelný hlavně při preskripci antibiotik a glykovaný hemoglobin, jenž je důležitým parametrem při dlouhodobém sledování pacientů s diagnózou diabetes melitus.

Praktická část práce byla provedena v Laboratoři pro lékařskou diagnostiku s.r.o. Havířov, která je nestátní zdravotnickou laboratoří s více než dvacetiletou úspěšnou tradicí, zakotvenou zejména v oblasti laboratorní medicíny. Laboratoř provádí základní i vysoce speciální vyšetření a poskytuje konzultační a znaleckou činnost převážně v oborech klinická biochemie, hematologie a toxikologie. Získala a nadále si průběžně udržuje nadnárodní kredit svých vyšetření a dlouhodobě se těší mimořádnému ohlasu. Pracuje dle principů evropské normy pro zdravotnické laboratoře, ČSN EN ISO 15189 verze 2013. Intenzivně a úspěšně se zaměřuje také na vlastní výzkum a vývoj metod a technologií. Přináší tak nová, často dosud komerčně nedostupná laboratorní řešení. Jejich cílem je prokazatelně a účinně přispět k lepším diagnostickým možnostem v péči o zdraví pacienta. LLD je ryze českou společností s jasnou majetkovou strukturou a českými vlastníky, bez cizích zahraničních majetkových podílů a jakýchkoliv finančních závazků. Svou činnost vykonává ve vlastních objektech. Vyznačuje se dlouholetými zkušenostmi a prokazuje se trvale vysokou kvalitou své práce. Je laboratoří, která důsledně uplatňuje v praxi jedinečný postup mikroanalýzy, přednostně zaměřený na analýzu tělesných tekutin.

RNDr. Jan Kandrnál, CSc. je dlouholetý člen komise pro laboratorní medicínu v ČR. Přednášel opakovaně a vychovával odborně mladou generaci působením na ILF Praha a Bratislava.

Vlastní zhodnocení provedených testů:

Souprava testů neobsahuje kalibrátory, kontroly ani adjustory, které by mohly být v ordinaci použité k ověření deklarované hodnoty. Pouze pro každé balení testovacích kazet je přiložen konkrétní ID čip odpovídající tomuto balení. Z těchto příčin byla provedena měření jen laboratorních kalibrátorů a kontrol. Výsledek jejich měření na testu nebyl ve všech případech zcela přesvědčivý a může být způsoben rozdílným odečtem matrice těchto materiálů. U lidských vzorků z denního provozu byla naměřena větší míra porovnatelnosti.

C-reaktivní protein (CRP):

Prvním testovaným parametrem byl C-reaktivní protein. Byly porovnány dvě technologie měření koncentrace tohoto analytu. Tester Wondfo Finecare využívá imunoanalytické fluorescenční techniky a přístroj Mindray BS-400 stanovuje koncentraci CRP fotometricky na principu reakce antigen-protilátka mezi protilátkami proti lidskému CRP a CRP přítomným ve vzorku.

Pro stanovení CRP byla v rozsahu 1,4 až 29,9 nalezena shoda stanovených koncentrací, kterou lze charakterizovat optimalizovanou funkční závislostí. (Graf 7, Obrázek 9)

$$y=a+b*x$$

Korelační koeficient: 0,939

$$a=-3,511$$

$$b=1,273$$

$$\text{Standard Error}=12,625$$

V laboratorní metodě je kalibrace prováděna z pěti bodů z kalibračního setu a je parabolickou funkcí, vyjádřenou polynomem čtvrtého řádu, přičemž dále pro nulovou hodnotu CRP je používán fyziologický roztok. Jiný způsob transformace naměřených dat

na koncentrace u testeru, který poskytuje závislost lineární, může být důvodem zjištěné neuspokojivé korelace při vyšších než 40 mg/l u stanovovaného CRP. Z klinického hlediska je tato skutečnost jen málo validní, neboť pro diagnózu bakteriální infekce, kterou toto vyšetření zejména sleduje je výše uvedený rozsah dostatečný. Tento parametr je však potřebný pro sledování léčby pacienta antibiotiky.

Glykovaný hemoglobin (HbA1c):

Druhým měřeným parametrem byla koncentrace HbA1c. Měřená fluorescenční imunoanalytickou technikou na přístroji Wondfo Finecare a technikou HPLC na přístroji Arkray HA-8160.

Testovali jsme vzorky čerstvé krve pacientů s již dříve stanovenou diagnózou diabetu či prediabetu u nichž byl již také dříve parametr průběžně stanovován a byla známa historie vývoje koncentrací HbA1c v čase delším než dva roky.

Vlastní měření bylo prováděno u všech vzorků z nesrážlivé, stabilizované, heparinizované, venózní krve. Testovací souprava firmy Wondfo umožňuje i odběr kapilární krve pomocí oděrové kapiláry což může být vhodně využito v ambulancích, kde není vhodné technické vybavení (pipety). Při tomto způsobu odměřování je nutné upozornit na nebezpečí zavlečení do výsledku pozitivní chyby v důsledku kontaminace potřísněnou krví i vnější stěny kapiláry. Tento vliv je však u stanovení HbA1c eliminován poměrným měřením. V této souvislosti může být dosaženo také větší přesnosti při stanovení analytu a lepší korelace s laboratorním měřením než u CRP. Toto plně potvrdily i výsledky námi provedených experimentů.

Při práci s testerem jsme zjistili, že ve výsledcích nejsou uváděny jednotky dle IFCC, které jsou již téměř celoplošně v České republice používány, ale jen jednotky dle amerických zvyklostí. Jejich přepočet není lineární, takže každý výsledek získaný na testeru byl přepočten na námi v laboratoři naměřené hodnoty a uživatelům poskytnut v jednotkách podle IFCC. Možnost pracovat přímo v tomto modu testovaným přístroj zatím neumožňuje.

Pro stanovení HbA1c byla nalezena dobrá shoda srovnávaných koncentrací, kterou lze charakterizovat optimálně lineární funkční závislostí. (Graf 8, Obrázek 10)

$$y=a+b*x$$

Korelační koeficient: 0,969

a=7,132

b=0,764

Standard Error=3,738

Charakteristiku testovaných vzorků CRP a HbA1c lze vyčíst z tabulek (tabulka 10 a tabulka 14), statistické vyhodnocení za použití programu CurveExpertu pro oba parametry je shrnuto na obrázcích (obrázek 9 a obrázek 10).

Grafy (graf 7, graf 9 a graf 10) charakterizují korelaci naměřených hodnot koncentrací daných parametrů za použití přístrojů:

Wondfo Finecare, Mindray BS-400, Arkray HA-8160.

Studie stanovení parametru CRP i HbA1c za použití přístroje Wondfo Finecare ukázala že přístroj lze úspěšně použít a využívat v ambulancích zdravotnických zařízeních (snadná obsluha, snadné provedení analýzy), ale za předpokladu že bude zajištěna harmonizace s výsledky laboratoře, která by měla zajišťovat také pravidelnou supervizi nad tímto přístrojem. Toto je zatím i s konzultací při nákupu a sjednocování výběru jednotlivých testerů prováděno jen v nemocničních zařízeních.

6. ZÁVĚR

V zájmu ochrany zdraví pacienta a k většímu zdůvěryhodnění měřených výsledků bude nezbytné postupně vytvářet v rámci působnosti spádových ambulantních klinických laboratoří systém návaznosti decentralizovaných metod v lékařských ambulancích na výsledky z centrální spádové laboratoře. Vzhledem k velké různorodosti již v praxi zavedených testerů v lékařských ordinacích to zajisté bude zdlouhavý a náročný proces. Přistoupili jsme proto k pokusu za optimálních podmínek provést základní srovnání dvou relativně velmi frekventovaných metod na obou úrovních měření. Cílem bylo prověřit použitelnost v laboratorní praxi uplatňovaných kalibrátorů a kontrol také na zařízeních v provozovaných lékařských ordinacích, což bylo po jisté selekci dosaženo. Dále jsme přistoupili k malému úspornému srovnání výsledků reálných vzorků z obou těchto pracovišť, zejména u významných diagnóz a rizikových pacientů. V tomto posouzení bylo dosaženo příznivých výsledků a tento způsob by bylo možné navrhnout jako standardní i při testování podobných zařízení v lékařských praxích ve vztahu se smluvní laboratoří ve zdravotnické praxi.

Jak již bylo zmíněno v závěru diskuze - studie stanovení parametru CRP i HbA1c za použití přístroje Wondfo Finecare ukázala, že přístroj lze použít a využívat v ambulancích (snadná obsluha, snadné provedení analýzy), ale za předpokladu že bude zajištěna návaznost a harmonizace s výsledky laboratoře, která zajišťuje supervizi nad tímto přístrojem.

V případě parametru CRP splňuje základní požadavek – tj. stanovení vyšší hodnoty, jež by mohla poměrně uspokojivě indikovat zánětlivý proces způsobený zejména bakteriální infekcí. Pro následné využití při sledování léčby zatím nebylo provedeno dostatek experimentů a bylo by vhodné ve studii dále pokračovat.

I v případě HbA1c dokáže tester stanovit hodnoty odrážející aktuální zdravotní stav pacienta. Pro podrobnější srovnání by však bylo vhodné zvolit větší počet vzorků v celé širší detekčního limitu a provést testy opakovatelnosti, dlouhodobé přesnosti a event.vychýlení v celém validačním rozsahu této metody.

Pro praktické i odborné lékaře pracující v samostatných ambulancích je jistě významným přínosem pro stanovení diagnózy možnost získat téměř okamžitě výsledek CRP, HbA1c, glykemie, INR či jiného vyšetření. Jak již bylo zmíněno v úvodu práce, doba odezvy POCT zařízení musí být kratší než doba odezvy laboratoře v režimu STATIM a POCT. Technika k získání výsledků by měla být využita v případě, že lze na základě těchto informací okamžitě změnit léčbu. Snadná obsluha, rychlost analýzy i cenová dostupnost – to vše jsou nesporné výhody.

Je však ale nutné zajistit i pravidelné hodnocení jejich přesnosti a spolehlivosti. POCT vznikla jako potřeba pro rychlou analýzu, kterou nemusí provádět odborný laboratorní pracovník. Ale právě personál tj. zdravotnické pracovníky, ne však se vzděláním v oblasti laboratorních metod, provádějící vyšetření v tomto režimu je potřeba dostatečně edukovat, aby se předešlo chybám, či nesprávnému používání testeru. V rámci velkých zdravotnických zařízení tyto přístroje spadají pod správu centrální laboratoře či odborného pracovníka. V případě samostatných ambulaní je pak ideální použití POCT harmonizovat se spádovou laboratoří a výsledky konkrétního vyšetření vždy porovnávat i s historií změny parametru u daného pacienta.

Zároveň každý uživatel a provozovatel POCT testeru v ambulantní praxi by měl včas informovat spádovou smluvní laboratoř o využívání přístroje k akutním laboratorním vyšetřením a měl by projevit zájem o porovnání produkovaných výsledků s laboratoří. Svůj záměr pořízení testeru s definovaným rozsahem a spektrem metod by měli lékaři s laboratoří konzultovat ještě před začátkem jeho provozování, případně dohodnout způsob vhodné porovnatelnosti měření.

7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

BERÁNEK et al., 2006. Doporučení výboru ČSKB Správné zavádění a používání POCT, [online]. 2006. [cit. 2016-12-29]. Dostupné na internetu:

<http://www.cskb.cz/cskb.php?pg=doporuceni--poct-spravne-zavadeni-a-pouzivani#06>

RACEK J., 2010. C-reaktivní protein a ateroskleróza. Labor Aktuell 2010, časopis firmy ROCHE s.r.o. 2010. ISSN 1214-7672

DASTYCH, M. 2011. Klinická biochemie bakalářský obor Zdravotní laborant. skriptu Lékařské fakulty. Brno, 2011

RACEK, J. 2006. Klinická biochemie. 2. přeprac. vyd. Galén, 2006, ISBN 80-726-2324-9.

PETROVÁ, P. ŠVÁBOVÁ, M. 2010. Labor Aktuell 01/10: IL-6, PCT, CRP – pomocné markery v diagnostice septických stavů, časopis firmy ROCHE s.r.o., 2010, ISSN 1214-7672

FRIEDECKÝ, B. 2005. Doporučení výboru ČSKB. Laboratorní diagnostika a sledování stavu diabetu mellitu. [on line]. 2005. [cit. 2016-12-20]. Dostupné na internetu:

<http://www.cskb.cz/cskb.php?pg=doporuceni--diagnostika-a-sledovani-DM#03>

ZIMA, T. 2007. Doporučení výboru ČSKB. Doporučené diagnostické a terapeutické postupy pro všeobecné praktické lékaře, LABORATORNÍ METODY, Část 1. -

Biochemické metody. [on line]. 2007. [cit. 2016-12-20] Dostupné na internetu:

<http://www.cskb.cz/cskb.php?pg=doporuceni--biochemicke-metody#2.16>

MEDESA 2016, Firemní prezentace přístroje, [on line]. 2017. [cit. 2017-1-3]. Dostupné na internetu: <http://medesa.ordis.cz/218857-bs-400/>

BIOVENDOR. 2014, Příbalový leták kalibračního listu CRP kalibrační set (Level 1-5)

MEDISTA. Firemní prezentace přístroje, [on line]. 2017. [cit. 2017-1-13]. Dostupné na internetu: http://www.medista.cz/data/files/arkray_ha-8160_adams_alc_prospekt.pdf

WONDFO. 2016. Materiály společnosti Wondfo k přístroji řady Finecare. 2016

CurveExpert Professional, software manual. [on line]. [cit. 2017-1-3]. 2017. Dostupné na internetu <https://docs.curveexpert.net/curveexpert/pro/intro.html>

MICROSOFT OFFICE, EXCEL. software manual. [on line]. [cit. 2017-1-3]. 2017. Dostupné na internetu <https://products.office.com/cs-cz/excel>

ČERMÁKOVÁ, M. ŠTĚPÁNOVÁ, I. 2003. Klinická biochemie 1. díl. 1. vyd. Brno: IDVPZ, 2003. 120 s. ISBN: 80-7013-372-4.

HENDL. 1997., Česká kinantropologie 6, 1997, 2, s.87-96, Katedra základů kinantropologie a humanitních věd Univerzita Karlova v Praze, fakulta tělesné výchovy a sportu. 1997. [on line]. 2017. [cit. 2017-1-5]. Dostupné na internetu: <http://web.ftvs.cuni.cz/hendl/metodologie/blandaltmanclanek1.pdf>

PLZÁK, Z. SUCHÁNEK, M. 2012. METODICKÝ LIST 10. EURACHEM. [on line]. 2017. [cit. 2017-1-3]. Dostupné na internetu: <http://www.eurachem.cz/user-files/files/metodicky-list-10.pdf>

VLKOVÁ, Et al. 2015. Ústav klinické alergologie a imunologie, FNUSA. Brno. [on line]. 2015. [cit. 2017-1-3]. Dostupné na internetu: http://www.csac.cz/own_files/file/Minikurz2015/Akreditace_metody_s_IVD_kitem.pdf

KRÁLOVÁ. Et al.2016. Math and Stats Support Centre, Katedra aplikované matematiky a informatiky Ekonomicko-správní fakulty Masarykovy univerzity. Materiály – statistika. [on line]. 2017. [cit. 2017-1-3]. Dostupné na internetu: <http://mathstat.econ.muni.cz/media/12565/pairedtest.pdf>

MIKLÓŠOVÁ, A. 2015, LABORATORNÍ PŘÍRUČKA VERZE 04. Laboratoře pro lékařskou diagnostiku s.r.o. 2015. [on line]. 2015. [cit. 2017-1-5]. Dostupné na internetu: <http://www.labdiag.cz/userFiles/uvod/a-lp-20151119-verze-04.pdf>

NOWAK, J et al. 2014. Zastosowanie testów point-of-care do oznaczania białka C-reaktywnego w podstawowej opiece zdrowotnej. Diagnostyka laboratoryjna. 2014 50(1). Fundacja Rozwoju Diagnostyki Laboratoryjne, Kraków. Polska

MRÓZEK, B. et al. 2013. Badania w miejscu opieki nad pacjentem – wytyczne wg normy ISO 22870. Diagnostyka laboratoryjna. 2013. 49.Nr 1. 49-52. Fundacja Rozwoju Diagnostyki Laboratoryjne, Kraków. Polska

SITKIEWICZ, D. 2004. ZWIĄZKI POMIĘDZY ZAPALENIEM A MIAŻDŻYCĄ: IMPLIKACJE DLA OCENY ZAGROŻENIA CHOROBA NIEDOKRWIENNĄ SERCA I JEJ POWIKŁANAMI. Przegląd Medycyny Laboratoryjnej IN VITRO EXPLORER. 2004. ABX Diagnostics Polska Sp. z o.o.. Polska

FRIEDECKÝ B., KRATOCHVÍLA, J. SKUP - cesta ke zvýšení kvality péče o pacienty. 2012. Prakt. Léč. 2012, č. 10, s. 492–494. ISSN 0032-6739

JAKOBSEN, K et al 2010. Influence of CRP testing and clinical findings on antibiotic prescribing in adults presenting with acute cough in primary care. Scandinavian Journal of Primary Health Care, 2010; 28: 229–236. [on line]. 2010. [cit. 2017-1-20]. Dostupné na internetu: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3444795/pdf/pri-28-229.pdf>

Novinky v možnostech provádění externího hodnocení kvality POCT, Prezentace firem, Practicus, odborný časopis, 3/2012 SVL ČLS JEP [on line]. 2012. [cit. 2017-3-20]. Dostupné na internetu: <http://web.practicus.eu/sites/cz/Documents/Practicus-2012-03/5-info-SVL.pdf>

SOHN, A et al 2016. Use of Point-of-Care Tests (POCTs) by US Primary Care Physicians. Journal of the American Board of Family Medicine, 2016; May–June 2016 Vol. 29 No. 3. [on line]. 2016. [cit. 2017-1-22]. Dostupné na internetu: <http://www.jabfm.org/content/29/3/371.full.pdf+html>

POLÁK, P. MATĚJOVSKÁ-KUBEŠOVÁ H. 2016. Co je C-reaktivní protein a jak správně interpretovat jeho zvýšené hodnoty?. Interní Med. 2016; 18(1): 49–51 ISSN - 1212-7299

Laboratoři pro lékařskou diagnostiku s.r.o. Havířov, www.labdiag.cz

PICKOVÁ, K. 2013. Co na vás prozradí glykovaný hemoglobin o kompenzaci diabetu. DIABETICKÁ ASOCIACE ČR. [on line]. 2013. [cit. 2017-1-20]. Dostupné na internetu: <http://www.diabetickaasociace.cz/radi/co-na-vas-prozradi-glykovany-hemoglobin-o-kompenzaci-diabetu/>

PODRACKÁ, L'. 2008. CRP – CENNÝ RADCA V KLINICKEJ PRAXI. Ambulantná terapia, 2008, roč. 6 (4): 241 – 243. [on line]. 2008. [cit. 2017-1-20]. Dostupné na internetu: <http://www.solen.sk/pdf/e6afc8fc3e7f22415698635b6a4c8834.pdf>

KRATOCHVÍLA, J. BUDINA, M. Poznámky k článku paní MUDr. J. Laňkové, odborného garanta SVL pro POCT INR a CRP. SEKK PARDUBICE Practicus, odborný časopis, 3/2012 SVL ČLS JEP [on line]. 2012. [cit. 2017-3-20]. Dostupné na internetu: <http://web.practicus.eu/sites/cz/Documents/Practicus-2012-03/5-info-SVL.pdf>

MARKO, P. 2009. Vyšetrenie CRP v ambulancii všeobecného lekára pre dospelých. Via pract., 2009, roč. 6 (1): 29–32. [on line]. 2009. [cit. 2017-3-20]. Dostupné na internetu: <http://www.solen.sk/pdf/3368b7be8f1b3ee669acf7688d8f5df0.pdf>

Výnos MZ SR č. 09812/2008 z 10.8.2008, ktorý určuje materiálne technické vybavenie zdravotníckych zariadení. [on line]. 2008. [cit. 2017-1-22]. Dostupné na internetu: http://www.fnnt.sk/dokumenty/Vestnik_MZ_SR_ciestka_32-51.pdf

FRIEDECKÝ, B. 2012. Doporučení výboru ČSKB. Doporučení: Změna jednotky pro stanovení glykovaného hemoglobinu A1c (HbA1c) a rozhodovacích mezí . [on line]. 2012. [cit. 2017-03-10]. Dostupné na internetu: [http://www.cskb.cz/res/file/doporučení/2012_HbA1c_jednotka\(3\).pdf](http://www.cskb.cz/res/file/doporučení/2012_HbA1c_jednotka(3).pdf)

ČESKÁ DIABETOLOGICKÁ SPOLEČNOST ČLS JEP z.s. [on line]. 2017. [cit. 2017-3-13]. Dostupné na internetu: <http://www.diab.cz/prepocet-hba1c>

SLONKA, J. 2014. Praktické využití programu Excel při verifikaci vybraných biochemických metod k akreditaci dle ČSN EN ISO 15189:2013. BAKALÁŘSKÁ PRÁCE. OSTRAVSKÁ UNIVERZITA V OSTRAVĚ. LÉKAŘSKÁ FAKULTA. FAKULTA BIOMEDICÍNSKÝCH OBORŮ

SLOVENSKÁ LEKÁRSKÁ KOMORA. CRP – úhrada VŠZP. [on line]. 2012. [cit. 2017-3-13]. Dostupné na internetu: <https://www.lekom.sk/index.php?ID=1526>

SEKK, Plán EHK 2017 POCT Firemní prezentace, [on line]. 2017. [cit. 2017-3-13]. Dostupné na internetu: http://www.sekk.cz/eqa/2017_plan_EHK_POCT_verze_1.pdf

QSK - Quality Systém Kontrolle, Firemní prezentace, [on line]. 2017. [cit. 2017-3-13]. Dostupné na internetu: <http://www.qsk.cz/o-sluzbe/>

Příloha 1: Verifikace CRP - protokol s postupy výpočty

Metoda: **CRP**
 Analyzátor: **MINDRAY BS 400**
 Druh materiálu: **serum, plazma**

C-SOP-CRP V02
 mg/l

Opakovatelnost:

Použitá souprava: **CRP** Kalibrátor: **BioVendor BV 50070**
 Výrobce: **BioVendor** Kontrolní mat A: **Smes.pl.pacientů 1**
 Číslo šarže: **60097523** Kontrolní mat B: **Smes pl.pacientů 2**

N	MINDRAY BS 400	
Materiál	kontr. A	kontr. B
1	25,4	54,4
2	25,5	54,2
3	25,8	54,1
4	25,1	55,5
5	24,0	56,2
6	24,2	55,4
7	25,0	54,0
8	25,7	54,2
9	25,5	53,2
10	25,3	55,8
11	24,7	55,6
12	24,5	52,6
Průměr	25,06	54,60
SD	0,590	1,103
v.k[%]	2,35	2,02

Referenční materiál

Kontrolní vzorky RfB DGKL Bonn, Německo
 RfB IG2/15_A

Vychýlení, bias:

Atest	27,4
1.	28,5
2.	27,9
3.	28,3
4.	28,5
5.	27,5
6.	28,4
7.	28,2
8.	27,4
9.	28,6
10.	28,8
průměr	28,21
R	1,03
bias[%]	2,96
urxp[%]	0,52

Výpočet nejistot:

Nejistota RM **2,53**
 Název RM **RfB IG2/15_A**

Výpočet rozšířené nejistoty:

relativní % **9,07**

Dlouhodobá přesnost: **09/2015 - 10/2015**

Kontrol. mat: C: **Smes.pl.pacientů 1**
 Kontrol. mat: D: **Smes pl.pacientů 2**

Povolená chyba **13,50%**

N	Výsledek	
Materiál	kontr. C	kontr. D
1.	28,0	54,0
2.	27,8	55,4
3.	27,5	53,2
4.	29,2	55,8
5.	28,5	56,0
6.	28,9	53,8
7.	27,4	55,8
8.	27,2	54,1
9.	26,8	53,3
10.	28,1	54,4
11.	28,0	54,1
12.	27,1	53,3
Průměr	27,88	54,4
SD	0,73	1,05
v.k[%]	2,62	1,92
v.k. průměr	2,270	
N	12	12

Název metody: CRP C-SOP-CRP V02

Období testování: 09/2015 - 10/2015

Údaje o diag. soupravě: **Název** CRP
Výrobce BioVendor
Č.šarže 60097523

Verifikováno pro druh materiálu: **serum, plazma**
Analyzátor: MINDRAY BS 400

1. Opakovatelnost

Použitý materiál: Kontr. mat A: **Smes.pl.pacientů 1**
Kontr. mat B: **Smes pl.pacientů 2**

Opakovatelnost (v sérii)				
Vzorek	Průměr	SD	VK[%]	N
A	25,06	0,590	2,35	12
B	54,60	1,103	2,02	12

prům.výrobce	VK[%]	3,25
--------------	-------	------

2. Dlouhodobá přesnost

Použitý mat.: C= Smes.pl.pacientů 1
D= Smes pl.pacientů 2

Dlouhodobá přesnost				
Vzorek	Průměr	SD	VK[%]	N
C	27,88	0,730	2,62	12
D	54,43	1,046	1,92	12
Průměr C+D			2,27	

prům.výrobce	VK[%]	2,60
--------------	-------	------

3. Vychýlení, bias:

Analyzátor :		MINDRAY BS 400				
Referenční materiál:		RfB IG2/15 A				
Atest	Nejistota	Rozmezí	Průměr	N	Bias	SDx
27,4	2,53	#ODKAZ!	28,21	10	2,96	0,524

4. Odhad nejistot

relativní komb. nejistota (%)	4,54
rozšířená komb. nejistota (%)	koef. = 2 9,07

Povolená chyba
13,5%

Naměřil: Bc.Slonka
Zpracoval: dr.Kandmál
Datum: 20.10.15
Závěr: Vypočtené verifikační charakteristiky metody vyhovují požadavkům na její použití.

Příloha 2: Verifikace HbA1c- protokol s postupy výpočty

Metoda: Glykovaný hemoglobin
Analyzátor: Adams A1c HA 8160
Druh materiálu: krev

C-SOP-GHBC-V01
Jednotky: mmol/mol

Opakovatelnost:

Použitá souprava: eluční set Arkray Kalibrátor: Arkray kalibrátor
Výrobce: Arkray Inc. Kontr. materiál: A Nativní krev pacient 1
Číslo šarže: 4K311 Kontr. materiál: B Nativní krev pacient 2

N	Adams A1c HA 8160	
Materiál	kontr. A	kontr. B
1	44	72
2	44	72
3	43	73
4	44	73
5	43	73
6	44	72
7	44	72
8	43	73
9	43	73
10	44	73
Průměr	44	73
SD	0,516	0,516
v.k[%]	1,184	0,711

Dlouhodobá přesnost: 09/2015 - 10/2015

Kontrola C: RfB GH 4/15_A
Kontrola D: RfB GH 4/15_B

N	Výsledek	
Materiál	kontr. C	kontr. D
1.	109	42
2.	106	42
3.	106	44
4.	107	43
5.	107	43
6.	105	42
7.	106	43
8.	109	43
9.	107	42
10.	105	44
Průměr	107	43
SD	1,418	0,789
v.k[%]	1,329	1,843
N	10	10

Referenční materiál RfB GH 4/15_B
nejistota mat. : 2,56

Vychýlení, bias

Rozmezí	36-52
Atest	42
1.	41
2.	42
3.	44
4.	43
5.	42
6.	45
7.	
8.	
9.	
10.	
průměr	42,833
R	1,020
bias[%]	1,98
urxp[%]	0,658

Výpočet nejistot:

rel.nejst.RM% 2,56
Název RM RfB GH 4/15_B

Výpočet rozšířené nejistoty:

relativní % 7,33

Povolená chyba: 18,0%

PROTOKOL

Název metody: Glykovaný hemoglobin
Jednotky: mmol/mol

C-SOP-GHBC-V01

Období testování:

09/2015 - 10/2015

Údaje o diag. soupravě:

Název: eluční set Arkray

Výrobce: Arkray Inc.

Č.šarže: 4K311

Verifikováno pro druh materiálu:

krev

Analýzátor:

Adams A1c HA 8160

1. Opakovatelnost

Použitý materiál:

Kontr. materiál: A

Nativní krev pacient 1

Kontr. materiál: B

Nativní krev pacient 2

Opakovatelnost (v sérii)				
Vzorek	Průměr	SD	VK[%]	N
A	43,60	0,516	1,184	10
výrobce	54,00	0,702	1,300	25
B	72,60	0,516	0,711	10
výrobce	54,00	0,702	1,300	25

2. Dlouhodobá přesnost

Použitý materiál:

Kontrola C: RfB GH 4/15_A

Kontrola D: RfB GH 4/15_B

Dlouhodobá přesnost				
Vzorek	Průměr	SD	VK[%]	N
C	106,70	1,42	1,329	10
výrobce				
D	42,80	0,789	1,843	10
výrobce				

průměr C+D		1,586	
------------	--	-------	--

3. Vychýlení bias

Použitý materiál:

RfB GH 4/15_B

		Analýzátor: Adams A1c HA 8160				
Referenční materiál:		RfB GH 4/15_B				
Atest	Nejistota	Rozmezí	Průměr	N	bias[%]	urxp[%]
42	2,56	36-52	42,83	6	1,98	0,658

4. Odhad nejistot

relativní kombin. nejistota (%)	3,67	Povolená chyba
relat.rozšířená nejistota (%) pro k = 2	7,33	18,0%

Naměřil: Bc. Slonka J.

Zpracoval: dr Herodes

Datum: 05.10.15

Závěr: Vypočtené verifikační charakteristiky metody vyhovují požadavkům na její použití.

Příloha 3: Příbalový leták CRP diagnostické reagentie

EXTERNÍ DOKUMENTACE

BioVendor
Laboratorní medicína

PŘEZKOUMAL

DNE: 13. 11. 2012

CE (12) 29

L¹CRP (C – reaktivní protein)

Diagnostická reagentie pro kvantitativní in vitro stanovení C-reaktivního proteinu (CRP) v séru nebo plazmě fotometricky.

Katalogové číslo:
BV 30011 150 ml (5 x 25 ml + 1 x 25 ml)
BV 300111 450 ml (5 x 75 ml + 1 x 75 ml)

Shrnutí¹⁻⁴:
 C-reaktivní protein (CRP) je nejznámější z proteinů akutní fáze, což je skupina proteinů, jejichž koncentrace v krvi se zvyšuje jako reakce na zánětlivá onemocnění (reakce akutní fáze). CRP je normálně přítomen v nízké koncentraci v krvi zdravých jedinců (< 5mg/l). Zvyšuje se až na 500 mg/l při akutních zánětlivých procesech, spojených s bakteriálními infekcemi, pooperačními stavy nebo poškozením tkání již po 6 hodinách, přičemž vrcholu dosahuje po 48 hodinách. Měření CRP je užitečné laboratorní stanovení, které se provádí za účelem zjištění akutních infekčních stavů a za účelem monitorování zánětlivých procesů i u akutních revmatických a gastrointestinálních onemocnění. Testování CRP má ve srovnání s měřením sedimentace erytrocytů (ESR) a stanovením počtu leukocytů různé výhody. Ve skutečnosti je citlivější, zvýšení se projeví dříve a jeho hladiny se vrací do referenčních mezí rychleji po léčbě.

Další potřebné materiály:
 NaCl roztok 9 g/l
 Obecné laboratorní vybavení.

Vzorek:
 Sérum nebo plazma (EDTA, heparin).
 Stabilita: 15 dní při 20 – 25 °C
 2 měsíce při 4 – 8 °C
 3 roky při – 20 °C
 Toto neplatí v případě opakovaného zamrazování vzorku.
 Nutno zabránit kontaminaci vzorku.

Pracovní postup:
Aplikace pro automatické analyzátory je dostupná na vyžádání.
 Vlnová délka: 340 nm, Hg 334 nm
 Kvyeta: 1 cm
 Teplota: 37°C
 Měření: proti reagenčnímu blanku

Metoda:
 Imunoturbidimetrické stanovení.

Princip:
 Stanovení koncentrace CRP pomocí fotometrického měření je založeno na reakci antigen-protilátka mezi protilátkami proti lidskému CRP a CRP přítomným ve vzorku.

Reagentie:
Složení a koncentrace:
R1:
 Tris pufr pH 7,5 100 mmol/l
 Polyethylenglykol (PEG)
 Detergenty a stabilizátory
R2:
 Tris pufr pH 8,0 100 mmol/l
 Protilátka (koží) proti lidskému CRP se stabilizátory

Skladování a stabilita:
 Diagnostické použití in vitro.
 Reagentie, skladované při 2-8°C, jsou stabilní do konce měsíce deklarovaného data na balení. Zabránit kontaminaci.
 Reagentie nesmí zmraznout.

Příprava reagenčních roztoků:
 Činidla R1 a R2 jsou připravena k okamžitému použití skladované při 2-8°C, jsou stabilní do konce měsíce deklarovaného data na balení. Reagentie nezamrazujte!

	Vzorek / µl	Standard / µl	Blank / µl
Vzorek	15	-	-
Dest. voda	-	-	15
Standard	-	15	-
R1	250	250	250

Promíchat a 5 minut inkubovat (37°C), změřit absorbanci A_1 vzorku (A_v), standardu (A_{st}) a blanku (A_{bl}), potom přidat:

R2	50	50	50
----	----	----	----

Promíchat a 5 minut inkubovat (37°C), změřit absorbanci A_2 vzorku (A_v), standardu (A_{st}) a blanku (A_{bl}).

Výpočet:
 Jednobodová nebo vícebodová kalibrace.

Jednobodová kalibrace:
 Pomocí kalibrátoru:

$$c_{CRP} = c_{st} \cdot (\Delta A_v - \Delta A_{bl}) / (\Delta A_{st} - \Delta A_{bl}) \quad [mg/l]$$
 c_{st} koncentrace CRP v standardu uvedená v atestu [mg/l]
 A_v absorbance vzorku
 A_{st} absorbance standardu
 A_{bl} absorbance blanku

Vícebodová kalibrace:
 Koncentrace CRP v neznámém vzorku je odvozena z kalibrační křivky pomocí vhodného matematického modelu jako je logit/log. Kalibrační křivku sestojte pomocí sady minimálně 5 kalibrátorů s různými hodnotami koncentrace a pro stanovení nulové hodnoty použijte 0,9% NaCl.
 Stabilita kalibrace: 4 týdny

Jednotlivé body kalibrační křivky určíme podle vztahu:

$$c_{CRP} = c_{st} \cdot (\Delta A_s - \Delta A_{bl}) / (\Delta A_{st} - \Delta A_{bl}) \quad [mg/l]$$

c_{st} koncentrace CRP v jednotlivých standardech uvedená v atestu [mg/l]
 A_s absorbance vzorku
 A_{st} absorbance standardu
 A_{bl} absorbance blanku
Výsledek se vydá v mg/l na 1 platné desetinné místo.

Kalibrace:

Ke kalibraci je doporučen kalibrátor CRP-kalibrační set (k.č. BV 50070). Přímá návaznost tohoto kalibrátoru je na CRM 470, koncentrace byla stanovena s celkovou nejistotou $U_{cal} = 5,06\%$.

Řízení kvality:

Pro vnitřní kontrolu kvality platí doporučení ČSKB SIKK, které je dostupné na webové stránce <http://www.cskb.cz> a pro externí hodnocení kvality je třeba využít některý komerčně dostupný systém, jehož výsledky jsou v ČR akceptovány. Blíže informace na <http://www.sekk.cz>.

Pro vnitřní kontrolu kvality použijte kontrolní séra s deklarovanou hodnotou koncentrace CRP:

^L BV Protein – kontrola Level 1 kat.č. BV 30017 1 ml
^L BV Protein – kontrola Level 2 kat.č. BV 30018 1 ml

Referenční hodnoty^{6,7}:

Dospělí < 5 mg/l
Novorozenci do 3 týdnů < 4,1 mg/l
Kojenci a děti < 2,8 mg/l

Každá laboratoř by si měla ověřit, jestli pro ni platí tato referenční rozmezí a pokud je to nutné stanovit si vlastní.

Měřicí rozsah:

1. Jednobodová kalibrace: měřicí rozsah je 2 - 250 mg/l, v závislosti na analyzátoru.
2. Vícebodová kalibrace: měřicí rozsah je od 2 mg/l až po hodnotu nejvyššího kalibrátoru, nejméně do 250 mg/l.

Funkční senzitivita/mez stanovitelnosti:

2 mg/l

Analytická senzitivita/citlivost:

1 mg/l

Bias:

0,8% (pro 32,0 mg/l)
0,2% (pro 100,0 mg/l)

Nejistota:

Byla stanovena z nejistoty kalibračního materiálu a nejistoty měření jako rozšířená standardní nejistota ($k=2$)

$$U_{rel} = 2 \sqrt{(U_{cal}^2 + U_{method}^2)} = 2 \sqrt{(5,06^2 + 2,6^2)} = 11,38\%$$

Analytická selektivita:

Protilátky použité v tomto stanovení jsou specifické proti lidskému CRP. Kyselina askorbová do 1,70 mmol/l, bilirubin do 684 μmol/l, hemoglobin do 5 g/l, lipémie do 22 mmol/l triacylglycerolů a stejně tak i antikoagulanty v obvyklých koncentracích neruší stanovení.

Prozone limit:

2000 mg/l

Přesnost:

Přesnost v sérii: ($n=20$)

Vzorek	Průměr mg/l	SD mg/l	CV %
vzorek 1	6,6	0,3	4,7
vzorek 2	20,4	0,6	3,0
vzorek 3	88,5	3,1	3,5

Přesnost ze dne na den: ($n=20$), denní kalibrace

Vzorek	Průměr mg/l	SD mg/l	CV %
vzorek 1	7,3	0,4	5,9
vzorek 2	22,1	0,6	2,6
vzorek 3	95,0	1,2	1,3

Přesnost ze dne na den: ($n=20$), jednorázová kalibrace

Vzorek	Průměr mg/l	SD mg/l	CV %
vzorek 1	7,2	0,4	5,7
vzorek 2	22,2	0,4	1,8
vzorek 3	97,8	2,4	2,5

Srovnání metod:


Srovnání stanovení mezi diagnostickou soupravou BioVendor^L CRP (y) a komerčně dostupnou nefelometrickou soupravou (x) bylo provedeno na 65 vzorcích. Rovnice regresní přímky má tvar $y = 0,99x + 0,00 \text{ mg/l}$; $r = 0,997$.

Upozornění:

1. Při koncentraci CRP nad 250 mg/l je nutné vzorek ředit v poměru 1 + 1 0,9% NaCl a výsledek násobit 2 x.
2. Kalibrátory nejsou součástí setu. Je možné je na přání objednat. Kalibrátory jsou kapalné, stabilizované, připravené k přímému použití a jsou založeny na lidské matrici. Koncentrace jednotlivých hladin CRP v mg/l je označena na štítku lahvičky.
3. Skladování: otevřených i uzavřených při 2 – 8 °C. Stabilita: uzavřených do deklarovaného data na lahvičce, otevřených nejméně 3 měsíce. Kalibrace s těmito pěti kalibrátory je vhodná pro sestavení kalibrační křivky, stabilita kalibrace je čtyři týdny.
4. Kontrola nejsou součástí setu. Na přání je možné je objednat. Kontrola jsou kapalné, stabilizované, připravené k přímému použití a jsou založeny na lidské matrici. Koncentrace CRP jsou uvedeny v příbalovém letáku.
5. Skladování: otevřené i uzavřené při 2 – 8 °C. Stabilita: uzavřených až do deklarovaného data na lahvičce, otevřených nejméně 3 měsíce.
6. Kalibrátory a kontroly byly připraveny z lidského séra od dárců, kteří byli testováni na nepřítomnost HIV protilátek, HBsAg a HCV pomocí FDA schválených testů, ovšem riziko infekce nemůže být úplně vyloučeno. S kalibrátory a kontrolou by tedy mělo být zacházeno opatrně, jako se vzorky pacientů.
7. Reagencie jsou konzervovány azidem sodným (0,095 %), zabraňte styku s pokožkou a sliznicemi.
8. Při práci s touto reagencí dodržujte nutná bezpečnostní opatření.
9. Likvidujte v souladu s platnými předpisy.

Příloha 4: Příbalový leták CRP kalibrační set

PŘEZKOUMAL RNDr. Jan Kandrál, CSc.
DNE: 15.12.15 CE IVD


BioVendor
Laboratorní medicína

^LCRP kalibrační set (Level 1 – 5)

Kalibrační set vhodný pro použití při kvantitativním in vitro stanovení C-reaktivního proteinu (CRP) fotometricky.

Katalogové číslo:
BV 50070 **kalibrátory Level 1 – 5** **5 x 2 ml**

Popis:
^LCRP kalibrační set je sada pěti kapalných stabilizovaných kalibrátorů s různými hodnotami koncentrací. Kalibrátory jsou založeny na lidské krevní matrici (séru).

Skladování:
Neotevřené i lahvičky po otevření musí být skladovány při teplotě 2–8°C.

Stabilita:
Neotevřené lahvičky jsou stabilní do data expirace vyznačeného na lahvičce.
Po otevření jsou stabilní 3 měsíce.
Nutno dodržovat zásady správné manipulace a skladování.

Příprava:
^LCRP kalibrační set je sada kapalných kalibrátorů, připravených k přímému použití.

Pracovní postup:
Jako návod k použití slouží příbalový leták reagentie.

Deklarovaná hodnota CRP:
Hodnoty koncentrací v ^LCRP kalibračním setu byly stanoveny v návaznosti na ERM-DA474/IFCC Referenční materiál.
Hodnoty koncentrace CRP uvedené níže jsou specifické pouze pro tuto výrobní šarži.

Upozornění:

1. Kalibrátory byly připraveny z krve dárce, kteří byli testováni na nepřítomnost protilátek HBsAg, anti-HIV 1+2, anti-HCV pomocí FDA schválených testů, ovšem riziko infekce nemůže být nikdy vyloučeno. S kalibrátory by mělo být zacházeno shodně jako se vzorky pacientů.
2. Kalibrátory obsahují 0,95 g/l azidu sodného. Nesmí se požívat. Chraňte před potřísněním kůže a sliznice.
3. Při práci s touto reagentií dodržujte nutná bezpečnostní opatření. Více informací naleznete v Bezpečnostním listu.
4. Pouze pro použití odborně vyškoleným personálem!
5. Likvidujte v souladu s platnými předpisy.

Literatura:

1. Stenman UH, Standardization of immunoassays. In: Price CP, Newman DJ, editors. Principles and practice of immunoassay. New York: Stockton Press; 1997. p. 243–68.
2. Dai F. Reference materials and guidelines for standardization of methods in laboratory medicine. In: Thomas L, editor. Clinical laboratory diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 1393–1401.
3. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. U.S. Department of Health and Human Services, Washington 1993 (HHS Publication No [CDC] 93 – 8395).

Vyrobeno:
BioVendor – Laboratorní medicína a. s.,
Karásek 1767/1, 621 00 Brno, Česká republika

	Číslo šarže	Datum expirace	Koncentrace
Level 1	21127	2016 - 11	9,71 mg/l
Level 2	21128	2016 - 11	20,5 mg/l
Level 3	21129	2016 - 11	54,7 mg/l
Level 4	21130	2016 - 11	149 mg/l
Level 5	21131	2016 - 11	289 mg/l

BioVendor – Laboratorní medicína a. s.
Září 2014/4
22

Příloha 5: Příbalový leták HbA1c – Eluents

For use with ADAMS™ A_{1c}

ELUENTS 60A-VP/TP, 60B-VP/TP, 60C-VP, 60C-TP, 60D-TP IVD

HEMOLYSIS WASHING SOLUTION 60H-VP/TP

ALWAYS KEEP THIS PACKAGE INSERT ON HAND AND CAREFULLY READ IT BEFORE USE

INTENDED USE

Eluents 60A-VP/TP, 60B-VP/TP, 60C-VP, 60C-TP, and 60D-TP, and Hemolysis Washing Solution 60H-VP/TP are for use with ARKRAY's Automatic Glycohemoglobin Analyzer, ADAMS A_{1c} HA-8160, that measures HbA_{1c} for diabetes diagnosis and diabetic blood sugar control, and HbA_{1c}, HbA₂, and HbF for β -thalassemia diagnosis. These reagents are for in vitro diagnostic use only; DO NOT use them for other purposes.

SUMMARY AND PRINCIPLE

Measurement of hemoglobin A_{1c} (HbA_{1c}) is useful in diabetes diagnosis and diabetic blood sugar control. The ADAMS™ A_{1c} HA-8160 obtains stable HbA_{1c} values by fractionating the hemoglobin (Hb) in human whole blood samples into individual components by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). This analyzer supports two measurement modes in which hemoglobin is fractionated differently.

Diabetes Monitoring Mode (Normal Mode) : Using the COLUMN UNIT-HSVI-VP and the four reagents listed in the below table, the analyzer measures stable HbA_{1c} in a sample in 2.9 minutes without being affected by labile HbA_{1c}, HbS, or HbC.

Diabetes Monitoring and β -thalassemia Screening Mode : HbA₂ and HbF measurement results are useful information for β -thalassemia diagnosis. Using the COLUMN UNIT-HSVI-TP and the five reagents listed in the below table, the analyzer measures stable HbA_{1c}, HbA₂, and HbF values in a sample in 4.2 minutes without being affected by labile HbA_{1c}, HbS or HbC.

NOTE: The analyzer is factory-set to the Diabetes Monitoring mode (Normal Mode). If β -thalassemia diagnosis is needed, contact your distributor and ask to have parameter settings changed.

REQUIRED REAGENTS

The following table lists the reagents required in each measurement mode, contents in the product packages, and ingredients:

Modes(*)	Reagents	Package Contents and Ingredients
VP TP	Eluent 60A-VP/TP	8 bottles × 1L / box, phosphate buffer containing 0.02% sodium azide and an oxidizer
VP TP	Eluent 60B-VP/TP	1 bottle × 600mL / box, phosphate buffer containing 0.02% sodium azide and an oxidizer
VP	Eluent 60C-VP	4 bottles × 600mL / box, phosphate buffer containing 0.02% sodium azide
TP	Eluent 60C-TP	4 bottles × 600mL / box, phosphate buffer containing 0.02% sodium azide
TP	Eluent 60D-TP	4 bottles × 600mL / box, phosphate buffer containing 0.02% sodium azide and an oxidizer
VP TP	Hemolysis Washing Solution 60H-VP/TP	3 bottles × 2L / box, phosphate buffer containing 0.02% sodium azide and surfactant

(*) VP: Diabetes Monitoring Mode (Normal Mode). TP: Diabetes Monitoring and β -thalassemia Screening Mode

WARNING

- As some of these reagents contain an oxidizer, strictly observe the following:
DO NOT leave spilled reagent as it is. If you spill the reagent on countertops or floors, or in case of its crystallization, never bring it into contact with a reducing agent such as alcohol or ascorbic acid. In case of any accidental contact or spill, clean the spot immediately and completely with water-bearing cloth. Rinse the cloth with large quantities of water.
- Each reagent contains 0.02% mucosa-irritative sodium azide (NaN₃) as a preservative. Sodium azide may react with copper or lead whereby potentially generating explosive metal azide. Sodium azide may also react with acid leading to the generation of toxic explosive hydrogen azide. Therefore, when these materials are disposed of, you should flush them with an adequate volume of water in order to prevent any residual reagent in the water service pipe.
- In case of contact with eyes, mouth, or skin, immediately and thoroughly wash with water. See your physician, if necessary.

PRECAUTIONS

- These products are exclusive to the ADAMS™ A_{1c} HA-8160. DO NOT attempt to use them with other instruments.
- For information on using the reagents, refer to the operating manual of the ADAMS™ A_{1c} HA-8160.
- Use the reagents with the column exclusive to the ADAMS™ A_{1c} HA-8160 and appropriate to the measurement mode the analyzer is in: COLUMN UNIT-HSVI-VP for the Diabetes Monitoring mode (Normal Mode), and COLUMN UNIT-HSVI-TP for the Diabetes Monitoring and β -thalassemia Screening mode.
- Use the reagents within the expiration date indicated on the packages and bottle labels.
- These reagents must be at room temperature before use.
- Place each reagent bottle in the specified position on the bottle tray, and correctly attach the Bottle Cap with Nozzle for that reagent.
- Shake the bottles gently to ensure the reagents are homogenous before use. If condensation forms on the inner wall of the bottle, inaccurate measurement results may be produced.
- Visually check for foreign matter in the reagents before use. DO NOT use reagents if precipitate is present.
- DO NOT add fresh reagent to old reagent. This can cause inaccurate results because of liquid alteration and/or thickening.
- Avoid physical shock.

STORAGE AND STABILITY

Unopened: Store the products in a dark place at 3-30°C (avoid direct sunlight).

Opened: Unsealed products must be used up within a month regardless of the expiration date. If the analyzer is to be left unused for more than one week, remove the reagents bottles from the analyzer, and store them tightly capped in a dark place at 3-30°C (avoiding direct sunlight) in order to prevent liquid alteration and/or thickening.

DISPOSAL

When discarding reagents that contain blood samples, follow local or your hospital's regulations on biohazard waste.

MANUFACTURER

ARKRAY, Inc.
57 NISHI AKETA-CHO, HIGASHI-KUJO,
MINAMI-KU, KYOTO, JAPAN

EUROPEAN REPRESENTATIVE

ARKRAY Europe, B.V.
PROF. J.H. BAVINCKLAAN 5 1183
AT AMSTELVEEN, THE NETHERLANDS

This product conforms to European
Directive 98/79/EC.



Issued: 2003-6
Revised: 2004-12