

LABORATORIJSKA MEDICINA USMERENA KA PACIJENTU

Zbigniew Gaciong

*Katedra za internu medicinu, hipertenziju
i vaskularne bolesti Medicinskog univerziteta
u Varšavi, Varšava, Poljska*

Personalizovana zdravstvena zaštita (PZZ) jeste medicina skrojena prema pojedincu koja se zasniva na dokazima i svakom pacijentu omogućava odgovarajuću negu u pravo vreme, čime se značajno poboljšavaju ishodi i smanjuju troškovi zdravstvene zaštite. Biomarkeri i individualizovana molekularna medicina imaju šansu da zamene tradicionalnu medicinu u kojoj postoji »jedan aršin za sve«. Medicinska prevencija i tretman jedinstvenog profila zdravog stanja i podložnosti bolesti svakog pojedinca igraće glavnu ulogu u proaktivnom lečenju, zamenjujući više reaktivne programe koji se oslanjaju na malobrojne distinktivne simptome. Na primer, lečenje raka može se značajno unaprediti odabirom pacijenata preko aktiviranja mutacija receptora za epidermalni faktor rasta (REFR) pomoću inhibitora tirozinske kinaze REFR. Zbog toga prevođenje molekularnih informacija u kliničke, sa ciljem prilagođavanja terapije, trenutno važi za najpogodniju meru za individualizovanje terapije pojedincu, tj. za povećanje efikasnosti i smanjenje toksičnosti. PZZ se zasniva na upotrebi odgovarajućih dijagnostičkih alatki koje koriste moderne laboratorijske tehnologije u koje spadaju sekvenciranje nove generacije, proteonomika i metabolomika. Mada se PZZ smatra medicinom budućnosti, personalizovani pristup već je oprobao u onkologiji, lečenju infektivnih bolesti i kardiologiji. Bliska saradnja – u okviru laboratorije kao i sa pacijentom – između laboratorije za dijagnostiku i lekara osnovni je preduslov za uspešnu medicinsku praksu usmerenu ka pacijentu.

PATIENT FOCUSED LABORATORY MEDICINE

Zbigniew Gaciong

*Department of Internal Medicine,
Hypertension and Vascular Diseases,
Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland*

Personalized health care (PHC) is evidence-based, individualized medicine that delivers right care to the right patient at the right time and results in significant improvements in outcomes and a reduction of the costs of health care. Biomarkers and individualized molecular medicine will have a chance to replace the traditional »one size fits all« medicine. Medical prevention and therapy of a unique health and disease susceptibility profile of each individual will play the key role in proactive treatment, replacing the more reactive schedules relying on few distinctive symptoms. As an example, cancer treatment can be significantly improved by selecting patients via activating mutations of the epidermal growth factor receptor (EGFR) by EGFR tyrosine kinase inhibitors. Therefore, translating molecular into clinical information in order to tailor the therapy is currently considered as the most appropriate measure to individualize treatment, i.e. to maximize efficacy and to minimize toxicity. Thus, PHC is based on appropriate diagnostic tools using modern laboratory technologies including new generation sequencing, proteonomics and metabolomics. PHC is considered medicine of the future; however, a personalized approach has already been applied in oncology, infectious diseases and cardiology. Close collaboration – both at the bench as well as by the bedside – between the diagnostic laboratory and the physician is a fundamental prerequisite for successful patient focused medical practice.

KATEPSIN S I ATEROSKLEROZA

Darko Černe

*Katedra za kliničku biohemiju,
Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Ljubljani,
Ljubljana, Slovenija*

Katepsin S (CTSS; EC 3.4.22.27) jeste cisteinska proteinaza uključena u autofagocitozu, klirens oštećenih mitohondrija, prezentaciju antigena druge klase glavnog histokompatibilnog kompleksa, kao i aterogenezu. Što se tiče aterogeneze, mRNK i nivoi proteina CTSS-a povišeni su u humanim i životinjskim ateromima, ali ne i u arterijama koje nisu zahvaćene aterosklerozom. CTSS sintetišu makrofage, ćelije glatkih mišića i endotelne ćelije, a otpušten u vanćelijski prostor on ispoljava elastolitička i kolagenolitička svojstva koja dovode do propadanja elastične sluzokože, pucanja plaka i razvoja nekrotičnog jezgra. Na osnovu neinvazivnog određivanja pomoću analize mRNK u plazmi, aterogeneza posredstvom CTSS-a povezana je sa inflamatornim i imunim odgovorom posredstvom CD40. Studije takođe pokazuju da CTSS utiče na metabolizam lipoproteina. *In vitro*, katepsini (npr. D, F, S i K) modifikuju apolipoprotein B u LDL i potom indukuju nastanak penastih ćelija. Što se naših studija tiče, povišena koncentracija i aktivnost CTSS-a u plazmi povezana je sa profilom više aterogene potklase LDL (smanjena veličina dominantnih LDL i povećan procenat malih, gustih LDL čestica). Zanimljivo, ovo ukazuje na nov mehanizam aterogeneze posredstvom CTSS-a. Aktuelni podaci o statinima koji utiču na CTSS su retki. Naši rezultati iznova pokazuju da atorvastatin ne menja ekspresiju CTSS-a. Međutim, u najnovijoj studiji atorvastatin (20 mg/dnevno, 10 nedelja) snizio je koncentraciju i aktivnost CTSS-a u plazmi, a ovo smanjenje odvijalo se istovremeno sa poboljšanjem profila potklase LDL. Promene su bile međusobno povezane. Istovremene, međusobno povezane promene u CTSS-u i profilu potklase LDL nađene su samo kod pacijenata sa B fenotipom LDL (prečnik dominantnih LDL $\leq 25,5$ nm na početku studije). Takva korisna, istovremena, međusobno povezana smanjenja aterogenih lipoproteina, koncentracije CTSS-a i aktivnosti njegovih enzima verovatno su uzročno povezana i, što je još važnije, verovatno vode ka poboljšanju ukupnog stanja pacijenta.

CATHEPSIN S AND ATHEROSCLEROSIS

Darko Černe

*Department of Clinical Biochemistry,
Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana,
Ljubljana, Slovenia*

Cathepsin S (CTSS; EC 3.4.22.27) is a cysteine protease involved in autophagocytosis, clearance of damaged mitochondria, major histocompatibility complex class II antigen presentation, and also in atherogenesis. As to atherogenesis, CTSS mRNA and protein levels are increased in human and animal atheroma but not in nonatherosclerotic arteries. CTSS is synthesized by macrophages, smooth muscle cells, and endothelial cells and when released extracellularly it exerts elastolytic and collagenolytic activities leading to elastic lamina degradation, plaque rupture, and necrotic core development. As assessed noninvasively by plasma mRNA analysis, CTSS mediated atherogenesis is associated with a CD40 mediated inflammatory and immune response. Studies also indicate that CTSS has an impact on lipoproteins metabolism. *In vitro* cathepsins (e.g. D, F, S and K) modify apolipoprotein B in LDL and subsequently induce foam cell formation. As to our studies, increased plasma CTSS concentration and activity are associated with a more atherogenic LDL subclass profile (decreased dominant LDL size and increased percentage of small, dense LDL particles). This intriguingly suggests a new mechanism of CTSS mediated atherogenesis. Current data on statins influencing CTSS are scarce. Our results repeatedly indicate that atorvastatin does not change CTSS expression. However, in the latest study atorvastatin (20 mg/day, for 10 weeks) lowered plasma CTSS concentration and activity and the lowering was concomitant to improvement of LDL subclass profile. The changes were interrelated. Concomitant, interrelated changes in CTSS and LDL subclass profile were found in LDL phenotype B patients only (dominant LDL diameter ≤ 25.5 nm at the start of the study). Such beneficial concomitant, interrelated reduction of atherogenic lipoproteins, CTSS concentration and its enzyme activity are likely to be causally related and, more importantly, are likely to lead toward improvement of a patient's overall condition.

ZNAČAJ ODREĐIVANJA SUPFRAKCIJA LIPOPROTEINA NISKE I VISOKE GUSTINE U PROCENI RIZIKA ZA RAZVOJ KARDIOVASKULARNIH BOLESTI

*Jelena Vekić, Aleksandra Zeljković,
Vesna Spasojević-Kalimanovska,
Slavica Spasić, Zorana Jelić-Ivanović*

*Katedra za medicinsku biohemiju,
Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu,
Beograd, Srbija*

Mnoge studije su pokazale da tradicionalni faktori rizika nisu dovoljno osetljivi da predvide razvoj kardiovaskularnih bolesti (KVB), a novija saznanja o mehanizmima nastanka ateroskleroze doprinela su razvoju novih biomarkera. Povišena koncentracija holesterola u lipoproteinima niske gustine (LDL) i snižena koncentracija holesterola u lipoproteinima visoke gustine (HDL) glavni su lipidni faktori rizika. Obe klase lipoproteina prisutne su u vidu kompleksne smese subfrakcija, koje imaju različitu veličinu, gustinu i lipidni sastav, ali i različitu ulogu u aterosklerozi. U ovoj studiji ispitivali smo klinički značaj određivanja LDL i HDL subfrakcija u proceni rizika za razvoj KVB i prognozi ishoda bolesti. U istraživanju je učestvovalo 229 zdravih osoba, 181 pacijent sa KVB, 200 pacijenata sa cerebrovaskularnom bolešću (CVB) i 122 pacijenta u terminalnom stadijumu bubrežne insuficijencije. LDL i HDL subfrakcije su razdvojene metodom elektroforeze na gradijentu (3–31%) poliakrilamidnog gela. Sve grupe pacijenata imale su značajno viši udeo malih LDL i HDL subfrakcija u odnosu na kontrolnu grupu. Utvrdili smo da male, guste LDL i HDL čestice nezavisno doprinose riziku za razvoj KVB i CVB. Povećan udeo manjih LDL subfrakcija bio je nezavisan faktor rizika za smrtni ishod nakon ishemijskog moždanog udara (OR=9,587; $p<0,01$), a manji dijametar HDL čestica za kraće preživljavanje pacijenata na hemodijalizi (HR=2,862; $p<0,05$). Prikazani rezultati potvrđuju značaj ispitivanja LDL i HDL subfrakcija u cilju pravovremene prevencije razvoja i neželjenog ishoda KVB.

SIGNIFICANCE OF LOW-DENSITY AND HIGH-DENSITY LIPOPROTEIN SUBFRACTIONS DETERMINATION IN THE ASSESSMENT OF CARDIOVASCULAR DISEASE RISK

*Jelena Vekić, Aleksandra Zeljković,
Vesna Spasojević-Kalimanovska,
Slavica Spasić, Zorana Jelić-Ivanović*

*Department of Medical Biochemistry,
Faculty of Pharmacy, University of Belgrade,
Belgrade, Serbia*

Numerous studies have shown that traditional risk factors are not sufficiently sensitive to predict cardiovascular disease (CVD) development. Recent findings on the pathogenesis of atherosclerosis have enabled the development of novel biomarkers. Increased low-density lipoprotein (LDL) cholesterol and reduced high-density lipoprotein (HDL) cholesterol levels are the main lipid risk factors. Both classes of lipoproteins comprise a complex spectrum of subfractions that vary in size, density and lipid content and have different roles in atherosclerosis. In this study, we investigated the clinical significance of LDL and HDL subfractions determination in CVD risk assessment and prognosis of the disease. The study included 229 healthy subjects, 181 CVD patients, 200 patients with cerebrovascular disease and 122 patients with end-stage renal disease. LDL and HDL subfractions were separated by gradient (3–31%) gel electrophoresis. All groups of patients had significantly higher proportions of small LDL and HDL subfractions than the control group. We have found that small, dense LDL and HDL particles independently contribute to the risk for developing CVD and cerebrovascular disease. Increased proportion of small LDL subfractions was an independent risk factor for mortality after ischemic stroke (OR=9.587; $p<0.01$) and smaller HDL particle diameter for reduced survival of patients on hemodialysis (HR=2.862; $p<0.05$). The presented results confirm the importance of LDL and HDL subfractions determination for the timely prevention of CVD development and adverse outcome.

PROMENE PARAMETARA LIPIDNOG STATUSA, OKSIDATIVNOG STRESA I INFLAMACIJE U TRUDNOĆI

Aleksandra Stefanović¹, Daniela Ardalić²,
Jelena Kotur-Stevuljević¹, Slavica Spasić¹,
Vesna Spasojević-Kalimanovska¹,
Zorana Jelić-Ivanović¹, Vesna Mandić-Marković²,
Željko Miković², Nikola Cerović²

¹Katedra za medicinsku biohemiju,
Farmaceutski fakultet,
Univerzitet u Beogradu, Beograd

²Ginekološko-akušerska klinika Narodni Front,
Beograd, Srbija

Trudnoća je fiziološko stanje praćeno brojnim promenama u metaboličkim procesima, koje se uglavnom ogledaju u promeni parametara lipidnog profila, a pre svega u povećanju koncentracije triglicerida tokom trećeg trimestra. Brojne studije su trudnoću povezale sa stanjem umerenog oksidativnog stresa i inflamacije. Svi ovi procesi zajedno su udruženi sa povećanim rizikom za razvoj kardiovaskularnih bolesti (KVB). U istraživanju su učestvovala 43 trudnice bez komplikacija tokom trudnoće u čijim uzorcima su određivani aterogeni indeksi plazme, parametri oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite [totalni oksidativni status (TOS), totalni antioksidativni status (TAS) i prooksidativni-antioksidativni balans (PAB)] i parametri za procenu stepena inflamacije. Određivanje je izvođeno u pet tačaka (prvi trimestar, drugi trimestar, treći trimestar, kraj trećeg trimestra i sedam nedelja nakon porođaja). Analiza rezultata ispitivanja je ukazala na značajno povećanje svih određivanih aterogenih indeksa plazme u trećem trimestru trudnoće. Takođe, vrednosti PAB-a bile su statistički značajno veće u trećem trimestru trudnoće i pre porođaja u odnosu na prvi trimestar ($p < 0,001$). Zanimljivo je da je uočen i značajan porast TAS-a ($p < 0,001$) u drugom i trećem trimestru trudnoće u odnosu na prvi trimestar, što ukazuje na kompenzatorno povećanje antioksidativne zaštite u stanju značajnog povećanja intenziteta oksidativnog stresa. Nije uočena statistički značajna promena u koncentraciji markera inflamacije tokom trudnoće. Rezultati ovog istraživanja nedvosmisleno potvrđuju da se tokom trudnoće bez komplikacija značajno menjaju parametri lipidnog profila i oksidativnog statusa.

LONGITUDINAL CHANGES IN LIPID PROFILE PARAMETERS, OXIDATIVE STRESS STATUS AND MARKERS OF INFLAMMATION THROUGH NORMAL PREGNANCY

Aleksandra Stefanović¹, Daniela Ardalić²,
Jelena Kotur-Stevuljević¹, Slavica Spasić¹,
Vesna Spasojević-Kalimanovska¹,
Zorana Jelić-Ivanović¹, Vesna Mandić-Marković²,
Željko Miković², Nikola Cerović²

¹Department of Medical Biochemistry,
Faculty of Pharmacy,
University of Belgrade, Belgrade, Serbia

²Clinic of Gynecology and Obstetrics Narodni Front,
Belgrade, Serbia

Pregnancy is a stressful condition during which many physiological and metabolic functions are altered towards dyslipidemia and an atherogenic lipid profile. A number of studies have showed that the most dramatic damage in the lipid profile in normal pregnancy is hypertriglyceridemia, which may be two- to three-fold higher in the third trimester compared to the levels in nonpregnant women. Pregnancy is also linked with increased susceptibility to oxidative stress and increased inflammation processes. All these processes are normally associated with increased risk of cardiovascular disease development. The Atherogenic Index of Plasma (AIP), oxidative stress status parameters [total oxidative status (TOS), total antioxidant capacity (TAS), prooxidant-antioxidant balance (PAB)] and the parameters of inflammation (hsCRP) were determined in 43 pregnant women with uncomplicated pregnancy. Blood was sampled towards the end of each trimester, before delivery (at the 38th gestational week) and more than 4 weeks postpartum. Results of this study showed a significant increase in different atherogenic indices of plasma during pregnancy. Pregnancy is accompanied by increased oxidative stress as the PAB ratio progressively increases during pregnancy ($p < 0.001$). A statistically significant increase ($p < 0.001$) was noticed in TAS concentrations in the 2nd and 3rd trimesters, before delivery and after delivery compared with the 1st trimester. There were no significant differences in hsCRP concentrations during pregnancy. Results of our current study indicate that pregnancy is characterised by intense oxidative stress, an intense inflammatory process and impaired lipoprotein metabolism.

KLINIČKI ZNAČAJ ISPITIVANJA GENSKE EKSPRESIJE U HUMANOJ KRVI

Ana Ninić, Vesna Spasojević-Kalimanovska,
Nataša Bogavac-Stanojević,
Jelena Kotur-Stevuljević, Miron Sopić,
Aleksandra Stefanović, Ivana Baralić,
Brižita Đorđević, Zorana Jelić-Ivanović,
Slavica Spasić

*Katedra za medicinsku biohemiju,
Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu,
Beograd, Srbija*

Puna krv i njene ćelije spadaju u najdostupnije i najčešće korišćene biološke materijale za analizu genske ekspresije u kliničkim istraživanjima. Nivo ekspresije gena daje uvid u to da li dolazi do ushodne ili nishodne regulacije gena, koji su geni možda odgovorni za nastanak bolesti ili imaju ulogu u specifičnim procesima kao što su fizička aktivnost i oksidativni stres. Proučavanje faktora koji utiču na varijabilnost u ekspresiji gena kod zdravih osoba je fundamentalno zbog pravilnog tumačenja rezultata promenjene ekspresije gena tokom patoloških stanja. Cilj istraživanja je bio da se ispita uticaj fizičke aktivnosti na gensku ekspresiju izoenzima SOD (Cu/Zn SOD i Mn SOD) u limfocitima sportista. Istraživanje je obuhvatilo grupu fudbalera koji su bili izloženi treniranju u trajanju od 12 nedelja. Određeni su biohemijski markeri oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite u plazmi fudbalera. U limfocitima fudbalera je kvantifikovana relativna genska ekspresija izoenzima SOD metodom *Real Time* PCR. Fudbaleri su nakon 12 nedelja treniranja bili u oksidativnom stresu. Vrednosti genske ekspresije Cu/Zn SOD nisu se statistički značajno promenile, dok su vrednosti Mn SOD bile značajno veće ($p=0,031$) nakon treniranja. Vrednosti genske ekspresije Cu/Zn SOD su bile parametar koji nezavisno utiče na ukupnu aktivnost SOD u plazmi ($p=0,025$), a koncentracija reaktivnih supstanci tiobarbituratne kiseline je imala ulogu prediktivnog faktora ($p=0,017$) za vrednosti genske ekspresije Mn SOD. Fizička aktivnost je modifikovala ekspresiju gena Mn SOD preko povećane produkcije slobodnih radikala. Utvrđena je interakcija markera oksidativnog stresa / antioksidativne zaštite iz plazme i vrednosti genske ekspresije izoenzima SOD iz limfocita pod uticajem fizičke aktivnosti.

CLINICAL SIGNIFICANCE OF GENE EXPRESSION ANALYSES IN HUMAN BLOOD

Ana Ninić, Vesna Spasojević-Kalimanovska,
Nataša Bogavac-Stanojević,
Jelena Kotur-Stevuljević, Miron Sopić,
Aleksandra Stefanović, Ivana Baralić,
Brižita Đorđević, Zorana Jelić-Ivanović,
Slavica Spasić

*Department of Medical Biochemistry,
Faculty of Pharmacy, University of Belgrade,
Belgrade, Serbia*

Whole blood and its cells are the most readily available and commonly used biological material for gene expression analysis in clinical trials. Gene expression levels provide insight into whether genes are upregulated or downregulated, which genes may be responsible for diseases development or have roles in specific processes such as physical activity and oxidative stress. Investigating factors that affect gene expression variability in healthy individuals is fundamental for the proper interpretation of altered gene expression results during pathological conditions. The aim of the study was to examine the influence of physical activity on SOD isoenzymes' (Cu/Zn SOD and Mn SOD) gene expression levels in athletes' lymphocytes. The study included a group of football players who had training sessions for 12 weeks. Biochemical markers of oxidative stress and antioxidative protection were determined in the players' plasma. SOD isoenzymes' relative gene expression levels in the players' lymphocytes were quantified by *Real Time* PCR. Football players were in oxidative stress after 12 weeks of training. Cu/Zn SOD gene expression levels did not change significantly after training, while those of Mn SOD were significantly higher ($p=0.031$) than before training. Cu/Zn SOD expression levels were an independent parameter that influenced the total SOD activity in plasma ($p=0.025$). Concentration of thiobarbituric acid reactive substances was a predictive parameter for Mn SOD gene expression levels ($p=0.017$). Physical activity modified Mn SOD gene expression levels through the increased free radical production. An interaction of oxidative stress / antioxidative protection status markers in plasma and the SOD isoenzymes' gene expression levels in lymphocytes was established under the influence of physical activity.

EKONOMSKA PROCENA NOVIH BIOMARKERA

*Nataša Bogavac-Stanojević,
Zorana Jelić-Ivanović*

*Katedra za medicinsku biohemiju, Farmaceutski
fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija*

U laboratorijskoj medicini koristi se veliki broj testova, a njihov broj će se verovatno povećati u budućnosti. Postoji zabrinutost zbog neracionalnog korišćenja laboratorijskih testova i rasta troškova laboratorijskih ispitivanja. Da bi se izbegli ovi problemi potrebno je izvršiti procenu kliničke koristi kako bi se postavila što tačnija dijagnoza i poboljšao ishod kod pacijenata. Prilikom procene laboratorijskih testova primenjuju se odgovarajući standardi. Trenutno se za procenu laboratorijskih testova koristi model koji obuhvata najmanje četiri koraka: analitičku i kliničku validaciju, procenu kliničke koristi i potencijalnih etičkih, društvenih i pravnih implikacija. Međutim, procena laboratorijskih testova obično se završava određivanjem tačnosti i poređenjem sa preporučenim referentnim standardom. Prilikom uvođenja novih laboratorijskih testova ili biomarkera u laboratorijsku praksu treba razmotriti i raspoloživost finansijskih sredstava. Racionalna raspodela finansijskih sredstava je neophodna, jer će ulaganje raspoloživih sredstava u neisplative procedure rezultirati lošijim ishodom kod pacijenata. Za razvoj i korišćenje novih tehnologija u svim naučnim oblastima važna je ekonomska procena. Analiza koja je preporučena za kvantitativnu procenu ekonomske vrednosti nekog laboratorijskog testa ili biomarkera je analiza odnosa troškova i efektivnosti (TEA). Ova analiza meri efekte (troškove i koristi) koji su posledica upotrebe novog laboratorijskog testa ili biomarkera u poređenju s njihovom alternativom. Primenom TEA olakšana je identifikacija laboratorijskih procedura i dijagnostičkih markera kojima se postiže najveća zdravstvena korist sa raspoloživim sredstvima. Istraživanje troškova i efektivnosti prilikom uvođenja nove tehnologije u zdravstveni sistem predstavlja završnu fazu u njenoj kliničkoj proceni.

ECONOMIC EVALUATION OF NEW BIOMARKERS

*Nataša Bogavac-Stanojević,
Zorana Jelić-Ivanović*

*Department of Medical Biochemistry, Faculty of
Pharmacy, University of Belgrade, Belgrade, Serbia*

The number of laboratory tests and biomarkers available in laboratory practice has been increasing rapidly over the past decades and is likely to increase further in the future. Consequently, there is growing concern about the overutilization of laboratory tests and the rising costs of laboratory testing. To avoid these problems proper evaluation of benefits, in terms of improved diagnostics and patient outcomes, is required. The evaluation of laboratory tests is straightforward and allows broad applicable standards to be established. The currently used model for laboratory tests' evaluation includes at least four steps: analytical and clinical validity, clinical usefulness and potential ethical, social and legal implications. However, the evaluation of laboratory tests typically ends after quantifying the accuracy of a test or biomarker as compared to the prevailing reference standard whilst the adoption of new laboratory tests or biomarkers in laboratory practice should enable efficient allocation of resources. An allocation of resources that is not cost-effective produces fewer benefits than would have been possible with a different allocation. Economic considerations are important in determining development and usage of new technologies in any scientific field. The most appropriate tool for the quantitative assessment of biomarkers' or laboratory tests' health economic value is the cost-effectiveness analysis (CEA). A CEA measures the effects (costs and benefits) resulting from a new laboratory test or a new biomarker against its alternative. Cost-effectiveness is expressed as a ratio of the incremental cost to the incremental effect. CEA is constructed to identify laboratory procedures or diagnostic markers that produce the greatest health care benefit with the resources available. Cost-effectiveness research provides important evidence within the final stage of a new health technology assessment before it is introduced into the healthcare system.

NEIZOSTAVNO MESTO I ZNAČAJ SRČANIH MARKERA U VODIČIMA I ALGORITMIMA KARDIOVASKULARNIH BOLESTI

Zorana Vasiljević

*Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu,
Beograd, Srbija*

Srčani markeri troponin I i T, de dimer, BNP i proBNP su poslednjih godina zauzeli posebno mesto u dijagnostici i terapiji kardiovaskularnih bolesti, posebno vitalno ugrožavajućih kao što su akutni infarkt miokarda, plućna embolija i srčana insuficijencija. Svako od ovih oboljenja nosi veliki rizik loše prognoze zbog čega je poboljšanje tačne dijagnostike izuzetno važno i znači spasavanje života. Prva iskustva sa troponinima T i I su bila pozitivna, tako da je danas prvi kriterijum od potrebna tri, po najnovijoj definiciji infarkta miokarda, pozitivan troponin. Ostala dva su tipičan ili atipičan anginozni bol, koji može da bude dijagnostički jasan ili ne, i EKG koji je kod izvesnog broja bolesnika nedijagnostički ili može da bude normalan (5%), što ostavlja izuzetno važno mesto pozitivnom nalazu troponina, koji određuje dalju terapiju bolesnika. U slučaju infarkta miokarda sa ST elevacijom, pošto je »vreme život« i spasavanje miokarda zavisi od brzine primene reperfuzione terapije, pozitivna vrednost troponina dobija centralno mesto. Upravo zbog toga je ovaj biomarker ušao u sve preporuke Evropskog i Američkog kardiološkog društva, kao i vodiče dobre lekarske prakse u Srbiji. Plućna embolija je oboljenje koje često nosi visok rizik od lošeg ishoda, ali klinička slika može da bude sasvim nespecifična i netipična, posebno kod nemasivne plućne embolije. Zbog toga je de dimer, ali i troponin, izuzetno važan za potvrdu sumnje da se radi o ovoj bolesti, koja se najčešće dijagnostikuje na obdukcijom stolu. Blagovremena dijagnoza i odgovarajuća terapija daju mogućnost da se pomogne većem broju bolesnika, koja je izostajala pre rutinske primene navedenih markera. U preporukama i vodičima su oba markera neizostavna. Srčana insuficijencija je treća dijagnoza koju je mnogo lakše potvrditi ukoliko postoji mogućnost rutinske primene BNP i proBNP. Ova dva markera su važna ne samo radi sigurne potvrde ove teške bolesti, već i kao dalji marker u praćenju odgovarajuće terapije. U preporukama, vodičima i algoritmima je mesto BNP-a i proBNP-a već u prvim koracima tačno naznačeno. Svi navedeni kardiospecifični markeri su danas neizostavni u postavljanju tačne dijagnoze i odgovarajuće terapije, zbog čega se nalaze u preporukama, vodičima i algoritmima za sve profile lekara koji se susreću sa ovim najčešćim a izuzetno teškim kardiovaskularnim oboljenjima.

THE INDISPENSABLE PLACE AND SIGNIFICANCE OF CARDIAC MARKERS IN CARDIOVASCULAR DISEASE GUIDELINES AND ALGORITHMS

Zorana Vasiljević

*Faculty of Medicine, University of Belgrade,
Belgrade, Serbia*

The cardiac markers troponin I and T, D-dimer, BNP and proBNP have in the past years gained special recognition in the diagnostics and treatment of cardiovascular diseases, especially life-threatening conditions such as acute myocardial infarction, pulmonary embolism and heart failure. Each of these conditions carries a great risk of poor prognosis, which is why improving accurate diagnosis is exceptionally important and can be life-saving. The first experiences with troponins T and I were promising and today positive troponin is the first of the three necessary criteria, according to the latest definition of myocardial infarction. The other two are typical or atypical anginal pain, that may or may not be diagnostically clear, and ECG that is non-diagnostic in a number of patients or may even be normal (5%), which leaves a very prominent place for positive troponin which will determine further treatment of the patient. In the case of ST elevation myocardial infarction, when »time is life« and preservation of the myocardium depends on prompt application of reperfusion therapy, positive troponin has a central place. This is precisely why this biomarker has been included in all the recommendations of the European Society of Cardiology and the American Heart Association, as well as good medical practice guidelines in Serbia. Pulmonary embolism is a condition often associated with a high risk of poor outcome and its clinical picture may be completely unspecific and atypical, especially in non-massive pulmonary embolism. D-dimer, but also troponin, is thus very important for confirming a suspicion of this condition, most often diagnosed during autopsy. Timely diagnosis and proper treatment allow the possibility of helping a greater number of patients, which was impossible before their determination became part of the routine. Both markers are indispensable in recommendations and guidelines. Heart failure is the third diagnosis that is much easier to confirm if there is the possibility of routine application of BNP and proBNP. These two markers are important not just for definite confirmation of this severe condition, but also as a marker for treatment monitoring. In recommendations, guidelines and algorithms, the role of BNP and proBNP is accurately stated in the first steps. All these cardiospecific markers are today indispensable for accurate diagnosis and proper treatment, which is why they can be found in recommendations, guidelines and algorithms for all medical professionals that may be faced with these frequent and exceptionally severe cardiovascular diseases.

NOVI BIOMARKERI – OD ISTRAŽIVANJA DO RUTINSKE KLINIČKE PRAKSE

Grazyna Sypniewska

*Odsek za laboratorijsku medicinu,
Medicinski fakultet, Univerzitet Nikola Kopernik,
Bydgość, Poljska*

Široko je rasprostranjena definicija biomarkera kao svakog molekularnog, ćelijskog, tkivnog ili slikovnog merenja nekog fiziološkog, patološkog ili terapijskog odgovora. Idealni biomarker trebalo bi da ispunjava sledeće kriterijume: tačnost, pouzdanost, bezbednost, dostupnost, isplativost i terapijski uticaj uz ranu intervenciju. Proces evaluacije novih biomarkera obuhvata nekoliko koraka: identifikaciju novog biomarkera i validaciju testa kod osoba sa i bez bolesti, određivanje praga za pozitivan rezultat, prospektivne studije u velikim grupama i, konačno, validaciju biomarkera kao alatke za kontrolu bolesti u randomiziranim kontrolnim ispitivanjima. Procena vrednosti jednog biomarkera za predikciju rizika, njegove sposobnosti da odvoji obolele od kontrolnih subjekata i omogući ponovnu klasifikaciju pacijenata (iz jedne kategorije rizika u drugu) ključna je u evaluaciji novih biomarkera. U oblasti kardiovaskularnih bolesti nedavno su evaluirani neki novi cirkulišući biomarkeri, kao što su: visokoosetljivi srčani troponini, faktor diferencijacije rasta – 15 (GDF-15), ST2 i galektin-3. Merljive koncentracije cirkulišućih srčanih troponina omogućavaju diskriminaciju pacijenata sa bolom u grudima koji je srčanog porekla u odnosu na one sa bolom drugačijeg porekla, a pokazano je da su povišeni nivoi troponina u korelaciji s porastom kardiovaskularnog mortaliteta. Dodavanje ovog markera tradicionalnom modelu faktora rizika značajno popravlja diskriminaciju. Nedavno je pokazano da GDF-15 nezavisno predviđa mortalitet kod starijih osoba koje žive u zajednici. Koncentracije GDF-15 na početku merenja i njihove promene tokom vremena pokazale su se kao snažan prediktor mortaliteta kod starijih osoba. Dodavanje GDF-15 tradicionalnom modelu faktora rizika donekle poboljšava predikciju mortaliteta uopšte, kao i diskriminaciju i ponovnu klasifikaciju. ST2 i galektin-3 se koriste kao biomarkeri za smanjenje broja ponovnih hospitalizacija kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom. Takvi biomarkeri trebalo bi da pomognu da se predvidi koji su pacijenti pod velikim rizikom od ponovne hospitalizacije. Štaviše, njihovo serijsko merenje u ambulantnim uslovima trebalo bi da omogući ranu intervenciju. Uz natriuretske peptide, koji se obično koriste u ove svrhe iako zapravo imaju ograničenu prediktivnu vrednost, ST2 i galektin-3 mogu se koristiti kao deo multimarkerske strategije za predviđanje ponovne hospitalizacije. I ST2 i galektin-3 pokazali su se kao snažni prediktori ponovne hospitalizacije kod pacije-

NEW BIOMARKERS – FROM RESEARCH TO ROUTINE CLINICAL PRACTICE

Grazyna Sypniewska

*Department of Laboratory Medicine,
Collegium Medicum, Nicolaus Copernicus University,
Bydgoszcz, Poland*

The definition of a biomarker as any molecular, cellular, tissue or imaging measurement of a physiological, pathological or therapeutic response is widely accepted. An ideal biomarker should meet the following criteria: accuracy, reliability, safety, availability, cost-effectiveness and therapeutic impact with early intervention. The process of evaluation of new biomarkers includes several steps: identification of a new biomarker and assay validation in individuals with and without a disease, establishing the threshold for a positive result, prospective studies in large cohorts and, finally, the biomarker validation as a disease control tool in randomized control trials. The estimation of the risk predictive value of a biomarker, its ability to discriminate between cases and controls and its ability to reclassify patients from one risk category to another is crucial in the evaluation of novel biomarkers. In the area of cardiovascular diseases some new circulating biomarkers have recently been evaluated, including: high sensitivity cardiac troponins, growth differentiation factor-15 (GDF-15), ST2 and galectin-3. Detectable concentrations of circulating cardiac troponins allow discrimination of patients with chest pain of cardiac origin from those with pain of non-cardiac origin and elevated troponin levels have been shown to correlate with an increase in cardiovascular mortality. The addition of this marker to the traditional risk factor model significantly improved discrimination. GDF-15 has been shown recently to independently predict mortality in community dwelling elderly individuals. GDF-15 concentrations at baseline and their changes over time were shown as strong predictors of mortality in elderly individuals. GDF-15 added to the traditional risk factor model improves moderately the prediction of all-cause mortality, increases discrimination and reclassification. ST2 and galectin-3 have been used as biomarkers to reduce hospital readmissions in patients with heart failure. Such biomarkers should help to predict which patients are at high risk for hospital readmission. Moreover, their serial measurement in the outpatient setting should allow for early intervention. Besides natriuretic peptides commonly used for this purpose, which have in fact limited predictive value, ST2 and galectin-3 may be used as part of a multimarker strategy to predict readmission. Both ST2 and galectin-3 have been shown to be potent predictors of hospital readmission in patients with heart failure. An elevated concentration of galectin-3

nata sa srčanom insuficijencijom. Povišena koncentracija galektina-3 pokazala se kao najjači nezavisni prediktor značajnog nepovoljnog kliničkog ishoda posle 30 dana kod STEMI pacijenata podvrgnutih primarnoj perkutanoj intervenciji, dok je povišena koncentracija ST2 najavila nepoželjne ishode kod pacijenata sa infarktom miokarda. Ograničena vrednost pojedinačnih biomarkera koji su vezani za isti patološki proces može se popraviti kombinovanjem markera iz različitih putanja. Kao primer može poslužiti upotreba strategije sa dva markera za procenu dijagnostičke efikasnosti u ranom otkrivanju akutnog koronarnog sindroma (AKS) kod pacijenata koji se javljaju sa bolom u grudima nastalim u okviru od šest sati pre hospitalizacije. Ocenjena su dva biomarkera: mioperoksidaza (MPO) u plazmi, koja ispoljava proinflatorna i prooksidativna svojstva, i visokoosetljivi srčani troponin I. Kombinovana evaluacija MPO i cTnI imala je upadljivo veću osetljivost nego procena samo cTnI kod svih pacijenata sa AKS (UA, NSTEMI i STEMI). Pored toga, pokazalo se da MPO znatno olakšava dijagnozu AKS kod pacijenata sa nestabilnom anginom. Multimarkerska strategija za korišćenje biomarkera koji odražavaju istu patofiziološku putanju ne popravlja značajno korisnost za predikciju. S druge strane, kombinacija »nekorelisanih« biomarkera omogućava bolju diskriminaciju. Potrebne su dodatne studije u oblasti novih biomarkera ne samo da bi se uspešno stratifikovao rizik u niskorizičnoj populaciji, već i da bi se odredilo da li se strategije upravljanja zasnovane na informacijama dobijenim posle testiranja biomarkera mogu bolje prilagoditi pacijentu. Buduća istraživanja koristeće nove molekularne alatke i nove moćne platforme za detekciju, poput genomike, proteomike i metabolomike.

was the strongest independent predictor of 30-day major adverse clinical outcome in STEMI patients undergoing primary percutaneous intervention and an increased concentration of ST2 also predicted adverse outcomes in patients with myocardial infarction. The limited value of individual biomarkers which derive from the same pathological process may be improved by combining markers from different pathways. One example may be the use of a two-marker strategy to assess the diagnostic efficacy for early detection of acute coronary syndrome (ACS) in patients presenting with chest pain initiating within 6 hours before the hospital admission. Two biomarkers were assessed: plasma myeloperoxidase (MPO), exerting proinflammatory and prooxidative properties, and high sensitivity cardiac troponin I. Combined evaluation of MPO and cTnI possessed remarkably higher sensitivity than assessment of cTnI alone in all patients with ACS (UA, NSTEMI and STEMI). Additionally, MPO was shown to substantially facilitate the diagnosis of ACS in patients with unstable angina. A multimarker strategy with the use of biomarkers that reflect the same pathophysiological pathway does not improve the predictive utility significantly. On the other hand, a combination of »uncorrelated« biomarkers results in better discrimination. Further studies in the area of new biomarkers are needed not only to successfully stratify the risk in low-risk populations, but also to determine whether the management strategies based upon the information obtained after biomarker testing may be better patient-tailored. Future research will use the new molecular tools and new powerful discovery platforms such as genomics, proteomics and metabolomics.

GENETIKA I EPIGENETIKA SRČANE INSUFICIJENCIJE

Sanja Stanković

*Centar za medicinsku biohemiju, Klinički centar
Srbije, Beograd, Srbija*

Srčana insuficijencija (SI) jeste složen klinički sindrom koji može nastati kao posledica poremećaja strukture ili funkcije srca koji narušava sposobnost komore da se puni krvlju ili da izbacuje krv. SI predstavlja vodeći uzrok morbiditeta i mortaliteta. Često je praćena patološkom remodelovanjem srčanog mišića. Različiti molekularni i ćelijski mehanizmi su uključeni u razvoj SI. Na molekularnom nivou, početak SI je povezana sa reprogramiranjem gena, uključujući nishodnu regulaciju gena za težak lanac alfa-miozina i gena za Ca²⁺ ATPazu sarkoplazmatskog retikuluma, kao i reekspresiju određenih

GENETICS AND EPIGENETICS OF HEART FAILURE

Sanja Stanković

*Center for Medical Biochemistry,
Clinical Center of Serbia, Belgrade, Serbia*

Heart failure (HF) is a complex clinical syndrome that can result from any structural or functional cardiac disorder that impairs ventricular filling or ejection of blood. It is a leading cause of morbidity and mortality. Frequently, it is accompanied with pathological cardiac remodeling. Various molecular and cellular mechanisms are involved in the development of HF. At the molecular level, the onset of HF is associated with reprogramming of gene expression, including downregulation of the alpha-myosin heavy chain gene and sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase genes and re-expression of certain fetal cardiac genes such as atrial natriuretic factor and brain na-

fetalnih srčanih gena kao što su atrijalni natriuretički peptid i B-tip natriuretičkog peptida. Ovi mehanizmi rezultiraju promenom strukture i funkcije proteina uključenih u različite ćelijske aktivnosti i indukuju progresiju SI. Epigenetska regulacija SI ostvaruje se kroz tri ključna mehanizma: (i) metilaciju CpG ostrva, posredstvom DNK metiltransferaza, (ii) modifikaciju histona (acetilacija, metilacija) i (iii) mikro RNK. Takođe, biće predstavljeni aktuelni izazovi i smernice za buduća istraživanja u oblasti genetike i epigenetike SI.

triuretic peptide. This results in altered structure and function of proteins included in various cellular activities, and induces progression to HF. Epigenetic regulation occurs via three key mechanisms: (i) methylation of CpG islands, mediated by DNA methyltransferases, (ii) modification of histone proteins (acetylation, methylation) and (iii) microRNAs. Finally, the current challenges and future research in the field of genetics and epigenetics of HF will be presented.

DEKLARACIJE PROIZVOĐAČA – ZAMKE I NEDOSTACI

Nora Nikolac

*Katedra za hemiju, Medicinski fakultet,
Univerzitetska bolnica Sestre milosrdnice,
Zagreb, Hrvatska*

U modernoj laboratoriji za kliničku hemiju gotovo sva merenja obavljaju se na raznim analitičkim platformama sa reagensima spremnim za upotrebu (ready-to-use). U svakodnevnom radu nastojimo da izaberemo najbolje reagense da bismo dobili rezultate koji ispunjavaju zahteve za kvalitetom predložene od strane stručnih organizacija. Uverenje o kvalitetu za reagense za *in vitro* dijagnostiku predstavlja oznaka CE, koja znači da proizvod odgovara zakonskim propisima Evropske unije. Deklaracije koje stižu uz reagens, dakle, treba da omogućе praćenje do utvrđenih standarda i da korisnicima pruže sve potrebne podatke. Nažalost, u praksi to nije uvek slučaj. Danas je akreditacija laboratorija prema standardu ISO 15189 postala imperativ za osiguravanje kvaliteta. Prema tom ISO standardu, moraju biti poznate sve relevantne karakteristike neke merne procedure kako bi se obezbedile optimalne performanse i smanjio rizik od grešaka. Prema zahtevu 5.5.3. ISO standarda 15189, dokumentacija o mernoj proceduri treba da obuhvati, pored ostalog, podatke o performansama, postupke za kalibraciju, procedure za kontrolu kvaliteta, interferencije i unakrsne reakcije. Proizvođači laboratorijskih reagenasa većinu ovih podataka treba da navedu u uputstvima koja dolaze u pakovanju ili tabelama podataka. Ovde nastaju problemi. U nekim deklaracijama velika količina podataka nedostaje. Čak i kada su navedeni, podaci nisu uvek adekvatni, između različitih proizvođača ne postoji standardizacija a ono što je navedeno često ne ispunjava zahteve Instituta za kliničke i laboratorijske standarde niti drugih smernica. Hajde da pogledamo kako to izgleda na deklaracijama o preciznosti. Preciznost je jedno od ključnih svojstava testa. Proizvođač je obavezan da navede podatke o preciznosti kako bi specijalistima u laboratoriji omogućio da procene da

MANUFACTURER DECLARATIONS – PITS AND PITFALLS

Nora Nikolac

*University Department of Chemistry,
Medical School University Hospital Sestre
Milosrdnice, Zagreb, Croatia*

In the modern clinical chemistry laboratory, almost all measurement procedures are done on different analytical platforms with ready-to-use reagents. In the everyday work we aim to choose the best reagents in order to obtain results that meet the quality requirements proposed by professional organizations. The assurance of quality for IVD reagents is the CE marking that indicates conformity to the legal requirements of the European Union. Declaration sheets accompanying the reagents should, therefore, be traceable to the established standards and provide all the necessary data to their customers. Unfortunately, in practise this is not always the case. Today, accreditation of laboratories according to standard ISO 15189 has become an imperative for quality assurance. According to the ISO standard, all the relevant characteristics of a certain measurement procedure have to be known in order to assure optimal performances and minimize the risk of errors. According to the requirement 5.5.3. of the ISO 15189 standard, documentation of the measurement procedure should include, among other things, data on performance characteristics, calibration procedures, quality control procedures, interferences and cross reactions. Most of this data should be provided by the manufacturers of laboratory reagents in package inserts and data sheets. This is where the problems begin. Some declarations lack a large amount of data. Even when the data are presented, they are sometimes not adequate, certainly not standardized among different manufacturers and often not following the required CLSI or any other guidelines. Let us review this on declarations for precision. Precision is one of the key performance characteristics of the test. The manufacturer has to declare data on precision to enable the laboratory specialist to

li će taj test odgovarati nameni. Na prvi pogled, sve deklaracije proizvođača liče jedna na drugu: sadrže slične pasuse i gotovo u svakoj postoji pasus o preciznosti. Uporedili smo proizvođačke deklaracije o preciznosti četiri proizvođača koji su dostupni u našoj laboratoriji. Proizvođač A (oznaka CE) navodi podatke dobijene testiranjem uzoraka za kontrolu kvaliteta na tri nivoa koncentracije, bez ikakve specifikacije vremenskog intervala kada je merenje obavljeno. Nije jasno da li se radi o preciznosti u seriji ili između serija. Proizvođač B (bez oznake CE) navodi preciznost u seriji dobijenu merenjem uzoraka seruma i preciznost između serija dobijenu merenjem uzorka za kontrolu kvaliteta, na sva tri nivoa. Proizvođač C (oznaka CE) navodi podatke za preciznost u seriji i između serija na dva nivoa, ali nije jasno koji su uzorci korišćeni (uzorci seruma ili uzorci za kontrolu kvaliteta). Proizvođač D (oznaka CE) navodi podatke dobijene merenjem uzoraka seruma, na tri nivoa koncentracije, za obe vrste preciznosti, u seriji i između serija. Čak i iz ovog malog proučavanog uzorka jasno je da između proizvođača postoje velike razlike u pogledu načina na koji navode preciznost testa, tj. korišćene materijale (uzorci seruma ili kontrolni uzorci), broj testiranih nivoa, vremenski interval testiranja. Najvažnije je da podaci koje dobijamo od proizvođača budu detaljni, da odgovaraju relevantnim smernicama i da budu standardizovani između različitih proizvođača. Ovo je izuzetno važno jer omogućava stručno poređenje različitih proizvođača prilikom odabira najboljeg dostupnog testa koji će se implementirati u svakodnevnu upotrebu. Otud, kao laboratorijski specijalisti, imamo obavezu da podižemo svest o ovom problemu i pokrenemo harmonizaciju u ovoj oblasti.

assess if the test will fulfill the intended use. At first glance, all manufacturer declarations seem similar. They contain similar paragraphs and almost all include a paragraph on precision. We have compared the manufacturer's declaration on precision for the 4 manufacturers available in our lab: manufacturer A (CE mark) declared data obtained by running QC samples on 3 concentration levels, without any specification of the time interval when the measurement was done. It is not clear if this is within-run or between run precision. Manufacturer B (no CE mark) declared within-run precision by running serum samples and between run precision by running a QC sample, all on 3 levels. Manufacturer C (CE mark) declared data for within-run and between run precision on 2 levels, but it is unclear which samples were used (serum samples or QC samples). Manufacturer D (CE mark) stated data obtained by running serum samples, on 3 concentration levels, for both within-run and between run precision. Even from this small studied sample it is clear that there is great heterogeneity between manufacturers in the way they are declaring precision of the test: materials used (serum or control samples), number of levels tested, time interval of the testing. It is imperative that the data provided by the manufacturers should be detailed, adherent to relevant guidelines, and standardized among different manufacturers. This is extremely important because it enables an educated comparison between different manufacturers when choosing the best available test for implementation into everyday use. It is therefore our obligation as laboratory specialists to raise consciousness about this issue and force harmonization in this field.

PREVENCIJA PROFESIONALNIH KRVNOPRENOSIVIH INFEKCIJA KOD ZDRAVSTVENIH RADNIKA: POSTEKSPOZICIONA PROFILAKSA

Zorica Šumarac

*Centar za medicinsku biohemiju, Klinički centar
Srbije, Beograd, Srbija*

Prevenција profesionalnih infekcija koje se prenose putem krvi kod radnika u zdravstvu obuhvata primenu nespecificne preekspozicione profilakse koja uključuje standardne mere zaštite u svakodnevnom radu, specificnu preekspozicionu profilaksu obaveznom vakcinacijom protiv akutnog virusnog hepatitisa B i primenu postupaka postekspozicione profilakse. Postekspoziciona profilaksa podrazumeva skup mera kojima se smanjuje mogućnost transmisije patogena, putem krvi i telesnih tečnosti, kod lica kod kojih je došlo do izloženosti potencijalno infektivnom bio-

PREVENTION OF OCCUPATIONAL BLOOD-BORNE INFECTIONS IN HEALTH CARE WORKERS: POST-EXPOSURE PROPHYLAXIS

Zorica Šumarac

*Centre for Medical Biochemistry, Clinical Centre
of Serbia, Belgrade, Serbia*

Prevention of occupational blood-borne infections in health care workers includes the application of non-specific pre-exposure prophylaxis which involves the use of standard precautionary measures in daily work, specific pre-exposure prophylaxis compulsory vaccination against acute viral hepatitis B and the application of post-exposure prophylaxis procedures. Post-exposure prophylaxis includes a set of measures to reduce the chance of transmission of blood-borne pathogens by blood and body fluids in the persons exposed to potentially infectious biological material.

loškom materijalu. Sveobuhvatni postekspozicioni postupak zavisi od potvrđivanja, odnosno isključivanja infekcije kod pacijenta koji je izvor infekcije, zbog čega je jako važno hitno sprovesti kliničku i epidemiološku evaluaciju rizika i serološko ispitivanje pacijenta-izvora infekcije i eksponiranog radnika. U sklopu primene mera postekspozicione profilakse, početni korak je pružanje prve pomoći izloženom radniku i tretiranje mesta ekspozicije. Sledeći postupak obuhvata evidentiranje podataka o vakcinalnom statusu izloženog radnika, načinu nastanka i vrsti povrede, predmetu koji je izazvao ekspoziciju, izloženom delu tela, vrsti potencijalno infektivnog biološkog materijala kao i prijavljivanje profesionalne izloženosti epidemiološkoj službi. S obzirom na značaj procene rizika na osnovu podataka o izvoru infekcije, potrebno je informisati pacijenta koji je izvor infekcije i tražiti saglasnost za utvrđivanje njegovog HBV, HCV i HIV statusa. Ukoliko pacijent-izvor odbije testiranje ili nije dostupan, epidemiološka služba dobiće podatke značajne za procenu rizika iz njegove medicinske dokumentacije. Ukoliko je pacijent-izvor nepoznat, podaci značajni za procenu rizika za HBV, HCV i HIV infekciju dobijaju se na odeljenju na kome je došlo do ekspozicije (učestalost pacijenata sa HBV, HCV i HIV na odeljenju, učestalost pacijenata koji koriste droge i ostalo). Nakon evaluacije ekspozicijskog incidenta, epidemiolog procenjuje rizik za transmisiju infekcija koje se prenose putem krvi i upućuje radnika na imunizaciju, virusološku dijagnostiku i zdravstveni pregled kod infektologa. Postupak postekspozicione profilakse protiv hepatitisa B zavisi od vakcinalnog statusa i imunog odgovora izloženog radnika. Na osnovu rezultata virusoloških ispitivanja uzoraka krvi izloženog radnika i pacijenta koji je izvor infekcije (ukoliko je to izvodljivo), infektolog donosi odluku o lečenju i daljoj primeni postekspozicione profilakse. Postekspoziciona profilaksa HBV infekcije podrazumeva HBV vakcinaciju i primenu imunoglobulina specifičnog za hepatitis B. Trenutno nije dostupna profilaksa za HCV infekciju, pa postekspoziciona profilaksa podrazumeva samo serološko praćenje eksponiranog radnika. Za profilaksu nakon profesionalne ekspozicije HIV pozitivnoj krvi preporučuje se primena antiretrovirusnih lekova, u skladu sa smernicama za lečenje koje utvrđuje stručni tim infektologa. Služba za epidemiologiju prati i evidentira celokupan postupak dijagnostike i lečenja kao i kliničko stanje izloženog radnika. Ciljevi proceduralnog definisanja postupaka postekspozicione profilakse u zdravstvenim ustanovama su omogućavanje pravovremene zaštite izloženih radnika, upravljanje sistemima nadzora, prijavljivanja i izveštavanja, uspostavljanje integrisanog pristupa u proceni rizika i sprečavanje uticaja faktora rizika koji dovode do ekspozicije, unapređenje bezbednosti radnih uslova i primena standardnih mera predostrožnosti, kako bi se smanjila učestalost izlaganja radnika u zdravstvu potencijalno infektivnom biološkom materijalu.

The entire post-exposure procedure depends on the confirmation or exclusion of blood-borne infection in the source patient. This implies the importance of prompt epidemiological and clinical evaluation of the risks, and serological testing of the source patient and the exposed health care workers. As part of the implementation of post-exposure prophylactic measures, the first step is to provide first aid and treatment to the exposed workers. The next procedure involves recording data on the vaccination status of exposed workers, mode of occurrence and type of injury, information about the object causing the exposure, data on the exposed part of the body and the type of potentially infectious biological material, and reporting occupational exposure to the Department of Epidemiology. Given the importance of risk assessment based on information on the source of infection, it is necessary to inform the source patient and seek permission to establish his HBV, HCV and HIV status. If the source patient refuses testing or is not available, epidemiological service information relevant to risk assessment are obtained from the source patient's medical records. If the source patient is unknown, data relevant to the assessment of risk for HBV, HCV and HIV infection are obtained from the department in which the exposure occurred (incidence of HBV, HCV and HIV patients in the ward, incidence of patients who use drugs, etc.). After evaluation of the exposure incident, an epidemiologist evaluates the risk of transmission of the blood-borne infection and refers workers to immunization, viral diagnosis and medical examination by an infectious disease specialist. The process of post-exposure prophylaxis against hepatitis B depends on the vaccination status and immune response of exposed workers. Based on the results of virological testing in blood samples of the exposed workers and the source patient (if applicable), an infectious disease specialist decides on the treatment and further implementation of post-exposure prophylaxis. Post-exposure prophylaxis for HBV infection includes prophylaxis with HBV vaccination and specific hepatitis B immune globulin. At the moment, there is no specific prophylaxis available for HCV infection. Therefore, post-exposure prophylaxis following occupational exposure to HCV positive blood in health care workers includes only serologic testing. In case of occupational exposure to HIV-positive blood, antiretroviral agents are recommended as post-exposure prophylaxis, based on the treatment guidelines developed by a team of infectious disease specialists. The Department of Epidemiology monitors and records the entire process of diagnosis and treatment, as well as the clinical condition of the exposed workers. The objectives of defining procedural actions for post-exposure prophylaxis in health care institutions are to enable timely protection of exposed workers, efficient management of the supervisory, monitoring, and reporting systems, establishment of an integrated approach for risk assessment and prevention of the impact of risk factors leading to exposure, promotion of safe working conditions and use of standard precautions, in order to reduce the incidence of exposure in health care workers to potentially infectious biological materials.

**WORKSHOP ROCHE:
UVODENJE VISOKO OSETLJIVOG
TROPONIN T TESTA U
KLINIČKU PRAKSU
PREMA VODIČIMA I
PREPORUKAMA EVROPSKOG
UDRUŽENJA KARDIOLOGA**

Tijana Krnjeta

Roche d.o.o. Srbija, BU Diagnostics

Tokom godina, razvijali su se sve osjetljiviji i specifičniji biomarkeri nekroze miokarda, povećavajući tačnost detekcije infarkta miokarda i omogućavajući detekciju čak i manje obimnih nekroza miokarda. Srčani troponini (cTn) poseduju najvišu kardioosetljivost i specifičnost u dijagnozi akutnog infarkta miokarda (AIM) i stoga se smatraju markerima izbora u dijagnozi AIM. Prema vodiču Evropskog Udruženja kardiologa, srčani troponin se, zajedno sa elektrokardiogramom, smatra ključnim faktorom u kliničkoj proceni pacijenata sa akutnim bolom u grudima. ECG ne može da obezbedi dovoljno informacija kod skoro 95% pacijenata, pa cTn može pomoći u identifikaciji pacijenata sa akutnim koronarnim sindromom (ACS). Iako su cTn-i markeri izbora oštećenja miokarda (koriste se u dijagnozi AIM i kratkoročnoj i dugoročnoj prognozi pojave AIM i ilealnog ishoda), postoje dva važna ograničenja koja treba razmotriti. Prvo ograničenje je da povišen troponin, iako precizan i kvantitativan marker miokardijalnog oštećenja (oštećenja kardiomiocita), nas ne obavestava o uzrocima ove nekroze. Najvažniji uzrok jeste AIM, ali postoje i drugi uzroci: miokarditis, bubrežna oboljenja, hronična srčana insuficijencija itd. Drugo i glavno ograničenje primene je što se standardni test za određivanje troponina ne smatra ranim markerom AIM, jer se detektabilne koncentracije u cirkulaciji javljaju tek nakon 3–4h od pojave znaka i simptoma. Tako dijagnoza AIM može zahtevati prolongirani period praćenja 6–12h i serijsko određivanje. Odlaganje u isključivanju prisustva AIM doprinosi stvaranju gužve na hitnom prijemu i pratećih troškova koji verovatno premašuju nekoliko milijardi eura svake godine. Još važnije, odlaganje potvrde prisustva AIM odlaže početak primene terapije i može povećati morbiditet i potencijalno mortalitet kod AIM. Zbog toga se javila potreba za razvojem visoko osjetljivih testova, koji bi mogli ranije detektovati oštećenje kardiomiocita, kao i detektovati manja oštećenja, nedetektabilna sa konvencionalnim cTn testovima. Ovaj novi test, u poređenju sa standardnim testovima, ima karakteristiku da može da izmeri troponin u velikom udelu zdrave populacije. Prema Fred Apple skoru, visoko osjetljivi test može da bude merljiv u najmanje 50% referentne populacije ispod 99-tog percentila. Ovi testovi mogu preciznije da definišu gornju gra-

**WORKSHOP ROCHE:
IMPLEMENTATION OF
HIGH-SENSITIVE TROPONIN T ASSAY
IN CLINICAL PRACTICE ACCORDING
TO EUROPEAN SOCIETY
OF CARDIOLOGY GUIDELINES
AND RECOMMENDATIONS**

Tijana Krnjeta

Roche d.o.o. Serbia, BU Diagnostics

Over the years more sensitive and specific biomarkers of myocardial necrosis were developed, increasing the accuracy of detecting myocardial infarction and allowing detection of smaller amount of myocardial necrosis. Cardiac troponins (cTn) have the highest cardio-sensitivity and specificity for the diagnosis of acute myocardial infarction (AMI) and therefore are considered as the preferred marker in the diagnosis of AMI. According to European Society of Cardiology Guideline, cardiac troponin, together with electrocardiogram (ECG) is defined as a key factor in clinical assessment of patients with acute chest pain. In almost 95% of patients with acute chest pain, ECG can not provide sufficient information, so cTn can help in identifying patients with acute coronary syndrome (ACS). Although cTns are preferred markers of myocardial injury (they are used in diagnosis of AMI and short and long term prognosis with respect to AMI and death), there are 2 important limitations which have to be considered. First limitation is that elevated troponin is precise and quantitative marker of myocardial (cardiomyocyte) damage, but it does not inform us about causes of this cardiomyocyte necrosis. Most important is AMI, but there are also other causes: myocarditis, renal failure, chronic heart failure etc. Second and a major limitation is that standard troponin assays are not considered as early markers of AMI, since levels become detectable in peripheral blood only after 3–4 h. Thus, the diagnosis of AMI can require prolonged monitoring over 6–12 h and serial blood sampling. Delays in 'ruling out' contribute to overcrowding in the emergency department (ED) and associated costs probably exceed several billion euros each year. More important, delays in 'ruling in' AMI delay therapy and may increase morbidity and potentially mortality in AMI. That's why there was a need for development of high sensitivity assays, which could detect cardiomyocyte damage earlier or smaller damages, undetectable with conventional cTn assays. This new assay, comparing with standard assays, has a feature to measure troponin in large number of healthy persons. According to Fred Apple's score card, high sensitive assay can have measurable values in at least 50% of normal values bellow 99th percentile. These assays can define more precisely upper reference limit

nicu referentnog intervala (URL) normalne populacije. Ovo je 99-ti percentil referentne populacije. Sve što je iznad 99-tog percentila predstavlja strukturnu ili funkcionalnu abnormalnost miokarda. Evropsko Udruženje kardiologa/Američki Koledž kardiologije (ESC/ACC) je 2011. godine redefinisao AIM i nova definicija se zasniva na detekciji porasta i/ili pada koncentracije troponina sa najmanje jednom vrednošću iznad 99-tog percentila (URL) u kombinaciji sa najmanje jednim poznatih kliničkih znaka i simptoma AIM. Ove niske koncentracije (99-ti percentile) bi trebalo da bude merene sa optimalnim nivoom analitičke preciznosti (koeficijent varijacije, KV 10% na 99-tom percentilu referentne populacije se smatra prihvatljivim po vodiču). Rocheov visoko osetljivi troponin T test je uspeo da ponovi KV manji od 10% na 99-tom percentilu referentne populacije na različitim aparatima i u različitim institucijama. On je i visoko osetljivi test i prema vodiču prihvatljiv. Novi visoko osetljivi test je napravio progress u kardiologiji. Dve velike multicentrične studije su pokazale značajno veću dijagnostičku tačnost visoko osetljivih troponin testova u dijagnozi AIM na prijemu, u pređenju sa standardnim troponin testovima. Visoko osetljivi troponin T (hsTnT) je pokazao najvišu osetljivost 95% i NPV 99%. Poređenjem dijagnostičke tačnosti, kvantifikovane površinom ispod krive (AUC), visoko osetljivi troponin T je kod svih pacijenata poboljšao dijagnostičku tačnost za 6,6%. Posebno poboljšanje uočeno je kod pacijenata koji su primljeni u okviru tri sata od pojave bola u grudima, gde je AUC poboljšana za 21%. Kod pacijenata sa NSTEMI, gde se određivanje troponina smatra još važnijim, hsTnT je identifikovao 20% više pacijenata sa finalnom dijagnozom NSTEMI u odnosu na cTnT 4-te generacije. Dijagnoza NSTEMI je u proseku postavljena 175 minuta (2 sata i 55 minuta) ranije u odnosu na postavljanje dijagnoze sa cTnT 4-te generacije. Prateći ove rezultate superiornih performansi u ranoj dijagnozi AIM, mnoge institucije su zamenile standardni troponin test sa visoko osetljivim troponin testom. Kliničari su se međutim susreli sa kliničkim izazovima, uglavnom zbog niske specifičnosti i male pozitivne prediktivne vrednosti (PPV) na 99-tom percentilu. Da bi se izbegla ova nesigurnost i pravilno postavila dijagnoza AIM, prepoznata su dva ključa. Prvi ključ bi bila diferencijalna dijagnoza povišenog troponina i korišćenje svih dostupnih informacija. Sa visoko osetljivim testom, povišen troponin se, u odsustvu ishemijske miokarda, uočava mnogo češće: kongestivna srčana insuficijencija, tahikardija, plućna embolija, bubrežna oboljenja, neurološke bolesti, pacijenti u kritičnom stanju itd. Zbog toga kliničari moraju obratiti mnogo više pažnje na sve dostupne kliničke informacije: starost, kardiovaskularni faktori rizika, vreme od pojave simptoma, srčana frekvencija, ECG, prethodna kardiovaskularna medicinska istorija, funkcija bubrega itd. Drugi ključ bi bilo korišćenje promene koncentracije troponina, dva merenja i praćenje rasta i/ili pada koncentracije

(URL) of normal population. This is 99th percentile of reference population. Everything higher than 99th percentile represents structural or functional cardiac abnormality. European Society of Cardiology/American College of Cardiology (ESC/ACC) redefine AMI in 2011, and a new definition is based on detection of rise and/or fall of troponin values with at least one value above the 99th percentile (upper limit of reference population) in combination with at least one of the clinical signs or symptoms of AMI. These low concentrations (99th percentile) should be measured with an optimal level of analytical imprecision (coefficient of variation 10% on 99th percentile of reference population). So, assay with CV 10% on 99th percentile of reference population is considered as guideline acceptable. Roche high sensitive troponin assay was able to replicate CV less than 10% on 99th percentile of reference population on different platforms in different institution. Roche test was one of the first commercially available assay fulfilling this requirement. It is high sensitive assay and guideline compliant. This new high sensitive assay made a significant progress in cardiology. Two large prospective multicenter studies have demonstrated significantly higher diagnostic accuracy of hsTn assays for the diagnosis of AMI at the time of presentation comparing to standard cTn assays. Hs TnT showed the highest sensitivity 95% and NPV 99%. Comparing the diagnostic accuracy, quantified by area under the curve (AUC), in all patients (STEMI and NSTEMI) high sensitive TnT improve diagnostic performance by 6.6%. Special improvement was seen in patients who presented within 3 hours after the onset of chest pain, where AUC was improved by 21%. Regarding the patients with NSTEMI, where troponin measurement is more important, hsTnT identified 20% more patients with a final diagnosis of NSTEMI than cTnT Gen 4. Time to diagnosis of NSTEMI was made a mean of 175 min (2h55 min) earlier with cTnT-hs than with cTnT Gen 4. Following these results with superior performance in the early diagnosis of AMI, many institutions replaced the standard cTnT assay with the hs-cTnT assay. Clinicians faced with challenges on clinical side, mainly because of low specificity and low PPV on 99th percentile. In order to avoid this uncertainty and do the proper diagnosis of AMI, two keys have been recognized. First key would be the differential diagnosis of elevated troponin and use of all available information. With a high sensitive assay, elevated troponin is observed more often, in absence of myocardial ischemia: like congestive heart failure, tachy- and bradycardias, pulmonary embolism, renal failure, neurological disease, critically ill patients etc. Clinicians should pay more attention on all available clinical information: Age, cardiovascular risk factors, time since onset of symptoms, heart rate and blood pressure, ECG, cardiovascular past medical history, renal function. Second key would be the use of troponin change, two measurements and monitoring of rise and/or fall instead of

umesto korišćenja jedne apsolutne vrednosti. 2011. godine ova preporuka korišćenja promene koncentracije troponina je zvanično uključena u vodič ESC. Sa drugim uzorkom u okviru tri sata, postiže se osetljivost 100%. Isti vodič naglašava da klinički značajna promena mora biti bazirana na biološkoj varijaciji. Promena hsTnT od 50% se ne može objasniti biološkom varijabilnošću. Ako se primeni 99-ti percentili kao cut-off i promena zasnovana na biološkoj varijabilnosti, može se predložiti dijagnostički algoritam kojim se postiže osetljivost 100% i specifičnost 99%. Ovaj tip algoritma je zvanično uključen u ESC NSTEMI vodič iz 2011. godine. Najnoviji trend u ranoj dijagnozi AIM je pomeranje drugog određivanja još ranije, i bezbedno isključivanje/potvrda prisustva AIM u okviru 1h. TRAPID-AMI studija je predložila algoritam sa drugim merenjem nakon 1h, postižući osetljivost i negativnu prediktivnu vrednost 100% za potvrdu prisustva AIM odnosno specifičnost 97% i pozitivnu prediktivnu vrednost 84% za isključivanje prisustva AIM i uz prevalencu AIM od 8% u opservacionoj grupi.

one absolute value. In 2011, this recommendation to use troponin change is officially included in ESC guideline. With the second sample within 3h, sensitivity approaches to 100%. Same guideline pointed that clinically relevant change should be based on biological variation. Change in hsTnT of 50% could not be explained by biological variation. If 99th percentile as a cut off and delta change based on biological variation is applied, an algorithm could be proposed reaching sensitivity of 100% and specificity of 99%. This type of algorithm was officially included in ESC NSTEMI guideline from 2011. The newest trend regarding the early diagnosis of AMI is to move second measurement earlier, and to do safe rule in/rule out of AMI within 1h. TRAPID-AMI study proposed an algorithm with second measurement after 1h, resulting in a sensitivity and negative predictive value of 100% for rule-out, and specificity and positive predictive value of 97% and 84%, respectively, for rule-in, and a prevalence of AMI of 8% in the observational zone group.

TIMSKI RAD KAO OSNOVA USPEHA: KOMUNIKACIJA IZMEĐU KLINIČARA I LABORATORIJE

Mirjana Đerić

Klinički centar Vojvodine, Centar za laboratorijsku medicinu, Medicinski fakultet Novi Sad, Novi Sad, Srbija

Standardizacija u kliničkim laboratorijama je veoma značajan faktor koji doprinosi obezbeđivanju kvaliteta laboratorijskog ispitivanja i formiranju kliničke informacije koja je u najboljem interesu za konačno zbrinjavanje pacijenta. Zahvaljujući naporu laboratorijskih stručnjaka danas je uspostavljena značajna standardizacija procesa koji se odvijaju unutar laboratorije, i to ne samo u okviru analitičke, već i delova preanalitičke i postanalitičke faze. Međutim, kako su pre-pre- i post-postanalitička faza i dalje najviše podložne greškama, neophodno je uspostavljanje usaglašenosti ili harmonizacije svih aspekata ukupnog procesa rada (TTP), počev od izbora testa do izdavanja rezultata laboratorijskih ispitivanja. Iako ovo zahteva timski rad laboratorijskih udruženja, regulatornih tela, akreditacionih sistema, organizatora spoljašnje kontrole kvaliteta (EQA), refundacionih sistema pa i lidera javnog mnjenja, saradnja između laboratorije i kliničara ipak ima ključnu ulogu u unapređenju kvaliteta laboratorijskih usluga. Bitni aspekti te saradnje su: način ostvarivanja međusobne komunikacije, razlozi međusobnog

TEAM WORK AS THE BASIS FOR SUCCESS: COMMUNICATION BETWEEN CLINICIANS AND THE LABORATORY

Mirjana Đerić

Clinical Centre of Vojvodina, Centre for Laboratory Medicine, Medical Faculty Novi Sad, Novi Sad, Serbia

Standardization of clinical laboratories is a very important contributory factor in ensuring the quality of laboratory testing and the establishment of clinical information that is in the best interest for the final care of the patient. Thanks to the efforts of laboratory professionals, today significant standardization of processes that take place in the laboratory is established, not just within the analytical, but also parts of the pre- and post analytical phases. However, as the pre-pre- and postpostanalytical phases are still the most error-prone, it is necessary to establish harmonization of all aspects of the overall work process (TTP), starting from the selection of tests to the reporting of results. Although this requires teamwork of laboratory associations, regulatory bodies, accreditation systems, organizers of external quality assurance (EQA), refund systems and even the public leaders, the cooperation between laboratories and clinicians still plays a key role in improving the quality of laboratory services. Important aspects of this cooperation are the way of achieving mutual communication, mutual contact reasons, the method of pro-

kontaktiranja, način pružanja informacija o uslugama laboratorije, vrsta informacija koje dostavlja laboratorija (o pripremi pacijenta za laboratorijska testiranja, uzrocima koji dovode do dobijanja nepravilnog uzorka, uticajima interferencije, zastarelosti metoda), forma i način ispunjavanja uputa za laboratorijska ispitivanja, mogućnost za laboratorijskog stručnjaka da zahteva dodatna laboratorijska ispitivanja, obrtno vreme (TAT) za izdavanje rezultata rutinskih, hitnih analiza i kritičnih vrednosti laboratorijskih rezultata, podaci koje dostavlja laboratorija (metode određivanja, nesigurnost rezultata merenja, biološke referentne vrednosti, sugestije o mogućnostima laboratorijske dijagnostike, interpretativni komentari), način dostavljanja rezultata laboratorijskog ispitivanja, izrada dijagnostičkih algoritama, uputstava i preporuka i, konačno, zadovoljstvo međusobnom saradnjom.

viding information on laboratory services, the types of information provided by the laboratory (on preparing patients for laboratory testing, the causes that lead to obtaining improper test samples, the effects of interference, the statute of limitations method), form and manner of filing the application for laboratory testing, possibility for laboratory professionals to require additional laboratory testing, turnaround time (TAT) for the issuance of the results of routine analyses, emergency analyses and critical values of laboratory results, data submitted by laboratories (methods of determination, the uncertainty of measurement results, biological reference values, suggestions about the possibilities of laboratory diagnostic, interpretative comments), the method of delivery of the results of laboratory tests, preparation of diagnostic algorithms, guidelines and recommendations and, finally, satisfaction with mutual cooperation.

ZNAČAJ KOMORE BIOHEMIČARA SRBIJE U ORGANIZACIJI LABORATORIJSKE SLUŽBE

Velibor Canić, Beograd

Komora biohemičara Srbije, Beograd

U skladu sa zakonom o komorama zdravstvenih radnika, osnovana je Komora biohemičara Srbije (KBS) kao nezavisna profesionalna organizacija za unapređenje uslova za obavljanje profesije medicinskog/kliničkog biohemičara. Članstvo u Komori je obavezno za sve zdravstvene radnike biohemičare koji kao profesiju obavljaju zdravstvenu delatnost. U Komoru je do kraja 2013. godine upisano 723 člana, od kojih aktivno članstvo poseduje 651 član, a status dobrovoljnog člana imaju 33 člana. Svi oni obavljaju svoju zdravstvenu delatnost u okviru 180 državnih i 112 privatnih laboratorija. Komora je organizovana u tri ogranka koji teritorijalno pokrivaju severni, zapadni i istočni deo Srbije. Pored zakonom utvrđenih obaveza vezanih za licenciranje članstva, aktivnosti Komore su bile i: učestvovanje u utvrđivanju nomenklature zdravstvenih usluga, utvrđivanje liste nadzornika, kao i sprovođenje spoljašnje kontrole stručnog rada. KBS je učestvovala u promovisanju, kao i delu aktivnosti vezanih za održavanje svih kongresa medicinske biohemije i laboratorijske medicine, EFCC simpozijuma za balkanski region, kao i drugih stručnih manifestacija. Značajan deo aktivnosti je vezan za akreditaciju laboratorija u okviru Akreditacionog tela Srbije (ISO 17025 i ISO 15189), kao i akreditaciju laboratorija u okviru zdravstvenih ustanova koju sprovodi Agencija za akreditaciju zdravstvenih ustanova. KBS učestvuje u izradi stručno-metodološkog doktrinarnog uputstva za

THE IMPORTANCE OF THE SERBIAN CHAMBER OF BIOCHEMISTS IN ORGANIZING LABORATORY SERVICE

Velibor Canić, Belgrade

Serbian Chamber of Biochemists, Belgrade

Under the Law on Chambers of Health Professionals, the Serbian Chamber of Biochemists (SCB) was founded as an independent professional organization whose purpose is to promote the conditions necessary for performing duties required by the profession of medical/clinical biochemist. Membership in the Chamber is mandatory for all health professionals – biochemists employed in health care. By the end of 2013, 723 members were registered in the Chamber, 651 of which are active members, and 33 have the status of voluntary members. They are all employed as health professionals in the 180 state and 112 private laboratories. The chamber has three branches that cover the territories of northern, western and eastern Serbia. Beside its obligations under the law related to member licensing, the Chamber has been engaged in the following activities: participation in determining the nomenclature of health care services, in determining the list of supervisors, and in implementing external control of professional work. The SCB has been involved in promoting, as well as completing activities related to the organization of all medical biochemistry and laboratory medicine congresses, EFCC symposia for the Balkan region, and other expert manifestations. A significant portion of its activities was related to the accreditation of laboratories within the Accreditation Body of Serbia (ISO 17025 and ISO 15189), as well as to the accredita-

primenu i obavljanje postupaka i metoda u oblasti medicinske biohemije (nomenklatura za oblast medicinske biohemije, standardizacija u medicinskoj biohemiji) uz utvrđivanje vrste kliničko-biohemijskih parametara za potrebe laboratorijske dijagnostike na svim nivoima zdravstvene zaštite (utvrđivanje liste parametara, način prikazivanja pojedinih parametara, izrada cenovnika usluga). KBS učestvuje u organizaciji i sprovođenju zaštite životne sredine i u upravljanju biološkim otpadom. U saradnji sa Republičkom stručnom komisijom Ministarstva zdravlja RS, za medicinsku/kliničku biohemiju aktivno se radi na procesu standardizacije laboratorijskih usluga, opreme, kao i izradi standarda laboratorijskih procedura u skladu sa vodičima dobre laboratorijske prakse.

tion of laboratories within the health care institutions conducted by the Agency for Accreditation of Health Care Institutions in Serbia. The SCB is engaged in making expert-methodology doctrinal guidelines for applying and performing procedures and methods in the field of medical biochemistry (nomenclature for the field of medical biochemistry, standardization in medical biochemistry) and in the determination of the type of clinical biochemistry parameters suitable for laboratory diagnostic on all levels of health protection (determining the list of parameters, the manner of presenting specific parameters, making a price list for the services). The SCB participates in the organization and implementation of environmental protection and biological waste management. In cooperation with the Republic Expert Committee of the Ministry of Health of the Republic of Serbia, the SCB is actively engaged in the process of standardization of laboratory services and equipment that is underway for medical/clinical biochemistry, as well as in the development of standards for laboratory procedures in accordance with good laboratory practice guidelines.

KLINIČKI PRISTUP SEPSI I SEPTIČKOM ŠOKU

Matej Podbregar

*Kliničko odeljenje za internu intenzivnu negu,
Univerzitetski medicinski centar,
Ljubljana, Slovenija
Medicinski fakultet, Univerzitet u Ljubljani,
Ljubljana, Slovenija*

Sepsa/septički šok je oboljenje sa visokom stopom mortaliteta koje izaziva promene u makrocirkulaciji pacijenta, kao i u njegovim tkivima i mikrocirkulaciji. Brzo prepoznavanje pacijenta sa sepsom i adekvatan/efikasan tretman neophodni su za povećanje stope preživljavanja. Lečenje se trenutno zasniva na evakuaciji izvora infekcije, pokrivanju antibioticima i ciljanju adekvatnog protoka u makrocirkulaciji, koji se meri na osnovu vrednosti laktata, zasićenosti centralnog/mešovitog venskog hemoglobina kiseonikom i procene funkcije organa (tj. izlučivanja urina za bubrege). Echo celog tela (uključujući srce, pluća, abdominalni echo, transkranijalni dopler, bubrežni protok) neophodan je za hitne odluke. Neki biohemijski markeri (npr. srčani troponin, moždani natriuretski peptid, CRP, prokalcitonin, IL-6) mogu nam pomoći da bolje vodimo terapiju i procenimo prognozu. Novi neinvazivni metodi, kao što je bliska infracrvena spektroskopija (NIRS), mogu doprineti proceni zasićenosti tkiva kiseonikom, potrošnje kiseonika u tkivima i rezervi za reperfuziju u mikrocirkulaciji. NIRS skeletnih mišića obećava kao pristup u praćenju jer dozvoljava kliničaru da brzo proceni

CLINICAL APPROACH TO SEPSIS AND SEPTIC SHOCK

Matej Podbregar

*Clinical Department for Internal Intensive Care
Medicine, University Medical Center,
Ljubljana, Slovenia
Medical Faculty, University of Ljubljana,
Ljubljana, Slovenia*

Sepsis / septic shock is a disease with a high mortality rate. In patients it induces changes in macrocirculation as well as in tissues and microcirculation. Fast recognition of a septic patient and adequate/efficient treatment are necessary to improve survival. The treatment is currently based on evacuation of the infection source, antibiotic covering and targeting adequate macrocirculatory flow, which is estimated by lactate value, central/mixed venous hemoglobin oxygen saturation and organ function estimation (i.e. urine output for kidneys). Whole body echo (including heart, lung, abdominal, TCD, renal flow) is essential for emergency decisions. Some biochemical markers (i.e. cardiac troponin, brain-natriuretic peptide, CRP, procalcitonin, IL-6) can further help us to better guide the therapy and estimate the prognosis. New noninvasive methods, such as near-infrared spectroscopy (NIRS), can help to estimate tissue oxygen saturation, tissue oxygen consumption and microcirculatory reperfusion reserve. Skeletal muscle NIRS is a promising monitoring approach allowing the clinician fast estimation of tissue oxygenation and enabling separation of shocks with pre-

oksigenaciju tkiva i omogućiti da se razdvoje šokovi sa očuvanom ekstrakcijom kiseonika u tkivu (tj. kardiogeni, hemoragični šok...) od šoka sa kompromitovanom ekstrakcijom kiseonika u tkivu (tj. septički šok), što je teško učiniti posebno u stanju relativno malih koronarnih rezervi kakvo se viđa kod pacijenata sa valvularnim bolestima srca (tj. stenozom aorte) ili kompromitovanom srčanom funkcijom.

served tissue oxygen extraction (i.e. cardiogenic, hemorrhagic shock...) from shock with compromised tissue oxygen extraction (i.e. septic shock), that is difficult especially in conditions of relatively low cardiac reserve as seen in patients with valvular heart disease (i.e. aortic stenosis) or compromised cardiac function.

ULOGA PROKALCITONINA I APACHE II SKORA U RANOJ PREDIKCIJI OZBILJNOSTI AKUTNOG ABDOMINALNOG STANJA

Nenad Ivančević

*Klinika za urgentnu hirurgiju,
Klinički centar Srbije, Beograd
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu,
Beograd, Srbija*

Sepsa i teška sepsa sve češće se javljaju u poslednjih nekoliko godina. Rano prepoznavanje i dijagnoza sepse su ključni za poboljšavanje ishoda. Abdominalna sepsa je često predstavljena akutnim abdominalnim simptomima vezanim za infekcije trbušne duplje koje izazivaju sistemski inflamatorni odgovor i zahtevaju hitnu hiruršku intervenciju. Za kliničke svrhe, dijagnostički kriterijumi abdominalne sepse treba da omogućće identifikaciju pacijenata u ranoj fazi sindroma, što je navelo hirurge da istražuju lečenje infekcije i primenu odgovarajuće terapije. Uloga kliničkog nalaza, radiografije, ultrazvuka i kompjuterizovane tomografije u uspostavljanju dijagnoze je dobro poznata. Parametri kao što su broj leukocita, povišene koncentracije C-reaktivnog proteina ili brzina sedimentacije eritrocita, pored navedenih kliničkih i radioloških pregleda, u rutinskoj su kliničkoj upotrebi sa ciljem da se definiše abdominalna infekcija. Odgovor na sepsu uključuje oslobađanje raznih medijatora, što je navelo na pomisao da se neki od ovih medijatora mogu koristiti kao markeri infekcije tj. težine sepse. U poslednjoj deceniji, procalcitonin (PCT) postao je pouzdan marker u kvalifikacijama sepse. Kod pacijenata sa sepsom nivo PCT-a raste, ponekad i nekoliko stotina puta više od normalnih vrednosti. Ovo povećanje u korelaciji je sa težinom sistemskog inflamatornog odgovora izazvanog infekcijom. Glavna prednost PCT-a je njegovo rano i visokospecifično povećanje kao odgovor na bakterijsku infekciju i to 3–6 sati posle prodora agensa. PCT je takođe dobar marker za razlikovanje pacijenata sa potvrđenom sepsom od onih koji su razvili sistemski inflamatorni odgovor, a nije uzrok infektivni agens. Isto tako, vrednosti PCT-a mogu pomoći da se napravi razlika između pacijenata sa teškom sepsom

ROLE OF PROCALCITONIN AND APACHE II SCORE IN EARLY PREDICTION OF SEVERITY IN ACUTE ABDOMINAL CONDITIONS

Nenad Ivančević

*Center for Emergency Surgery,
Clinical Centre of Serbia, Belgrade
Medical Faculty, University of Belgrade,
Belgrade, Serbia*

Sepsis and severe sepsis have been increasing in recent years. Early recognition and diagnosis of sepsis are crucial to improve outcome. Abdominal sepsis is often represented by acute abdominal symptoms related to abdominal infection which has provoked a systemic inflammatory response and which requires urgent surgical intervention. For clinical purposes, the diagnostic criteria of abdominal sepsis should allow identification of patients at an early stage of the syndrome, prompting surgeons to search for and treat infection and administer appropriate supportive therapy. The role of clinical findings, plain radiography, ultrasonography and computed tomography in the establishment of a diagnosis are well known. Parameters such as white blood cell (WBC) count, elevated C reactive protein (CRP) concentration or increased erythrocyte sedimentation rate, in addition to previous clinical and radiological examinations, are in routine clinical use to define abdominal infection. Sepsis response involves the release of a wide variety of mediators, which has led to the suggestion that some of these mediators could be used as markers of infection or sepsis severity. In the last decade, procalcitonin (PCT) became a valuable marker in sepsis qualification. In septic patients, the PCT level increases, sometimes to more than several hundred ng/mL. This increase correlates with the severity of systemic inflammatory response related to infection. Major advantage of PCT is its early and highly specific increase in response to bacterial infections, 3–6 hours after infection. Also, PCT is a good marker for differentiating patients with sepsis from those with a systemic inflammatory reaction not related to an infectious cause. Similarly, PCT values may help to discriminate between patients with

i u septičkom šoku i onih u manje težem stanju. Tačno određene vrednosti koncentracija prokalcitonina su uvek u značajnoj korelaciji sa APACHE II bodom (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II score). Štaviše, PCT može da se koristi za praćenje toka bolesti, prognozu po život opasnih bakterijskih infekcija kao i što efikasnije sprovođenje terapije. U najboljem slučaju, PCT ima umereno pozitivnu prediktivnu vrednost i najbolje je koristiti ga kao jedan deo sveobuhvatne kliničke procene pacijenta. Sepsa se dijagnostikuje kada su klinički dokazi infekcije praćeni znacima sistemske inflamacije. Mortalitet pacijenata sa sepsom kreće se između 35 i 70%, u zavisnosti od težine septičnog stanja. Pored ostalih faktora, odložena dijagnoza doprinosi nepovoljnoj prognozi kod pacijenata sa sepsom. Shodno tome, rana dijagnoza intraabdominalne infekcije je važna jer ukazuje na potrebu za hitnim hirurškim zahvatom.

severe sepsis infection and septic shock and those with less severe conditions. Quantitative procalcitonin concentration is significantly correlated with the Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II score. Moreover, PCT can be used to monitor the course and prognosis of life-threatening systemic bacterial infections and to tailor the therapeutic interventions more efficiently. At best, PCT has moderate positive predictive value and is best used as one part of a comprehensive clinical evaluation of the patient. Sepsis is diagnosed when clinical evidence of infection is accompanied by signs of systemic inflammation. The mortality of patients with sepsis ranges between 35 and 70%, depending on severity. Among other factors, delayed diagnosis contributes to the unfavourable prognosis in patients with sepsis. Consequently, early diagnosis of intraabdominal infection is important in indicating urgent surgical procedure.

DIJAGNOSTIČKI I PROGNOŠTIČKI ZNAČAJ BIOMARKERA U UPRAVLJANJU ABDOMINALNOM SEPSOM

*Tatjana Vodnik, Svetlana Ignjatović,
Nada Majkić-Singh*

*Centar za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije, Beograd, Srbija*

Sepsa je klinička manifestacija generalizovane inflamatorne reakcije domaćina na infekciju. Pojam sepse u abdominalnoj hirurgiji podrazumeva postojanje intraabdominalnog septičnog fokusa, kao glavnog pokretača niza patofizioloških zbivanja. Direktna resorpcija i oslobađanje endotoksina započinju disfunkciju respiratornog, metaboličkog, koagulacionog i fibrinolitičkog sistema. Intraabdominalne infekcije predstavljaju oboljenje koje započinje prodorom mikrobiološkog uzročnika u peritonealnu šupljinu, što se nastavlja napredovanjem infekcijskog i inflamatornog procesa. Ako se patološki proces ne zaustavi u stadijumu inflamatornog odgovora dolazi do daljeg razvoja patološkog procesa i nastanka sepse, teške sepse i septičkog šoka, koji se odlikuje sindromom multiple organske disfunkcije. Bolesnici sa sistemskom infekcijom kojoj je pridodata i organska disfunkcija ili stanje šoka klinički se teško razlikuju od bolesnika sa sličnim stanjima, ali bez infekcije. Odgovor organizma u sepsi podrazumeva oslobađanje mnogih biomarkera, i to je činjenica koja nam sugerise da se neki od ovih biomarkera mogu koristiti kao markeri infekcije ili ozbiljnosti sepse. Zato su od izuzetnog značaja laboratorijski parametri koji bi omogućili efikasno razlikovanje infektivne etiologije

DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC VALUE OF BIOMARKERS IN THE MANAGEMENT OF ABDOMINAL SEPSIS

*Tatjana Vodnik, Svetlana Ignjatović,
Nada Majkić-Singh*

*Center for Medical Biochemistry,
Clinical Centre of Serbia, Belgrade, Serbia*

Sepsis is the clinical manifestation of a generalized host inflammatory response to infection. The term sepsis in abdominal surgery implies the existence of an intraabdominal septic focus, as the main mover a numerous pathophysiological events. Direct absorption and release of endotoxin initiate dysfunction of the respiratory, metabolic, coagulation and fibrinolysis systems. Intraabdominal infection is a disease that begins with invasion of microbial pathogens in the peritoneal cavity, continuing with the progress of infectious and inflammatory processes. If the pathological process does not stop at the stage of the inflammatory response this leads to further development of the pathological process and the development of sepsis, severe sepsis and septic shock, which is characterized by the multiple organ dysfunction syndrome. Patients with systemic infection involving organ dysfunction and a state of shock are difficult to clinically distinguish from patients with similar conditions, but without infection. Response of the organism in sepsis involves the release of many biomarkers, and this is a fact which leads us to assume that some of these biomarkers can be used as markers of infection and the severity of sepsis. Laboratory parameters that would provide efficient distinguishing of an

opšteg inflamatornog odgovora od drugih sličnih stanja. Zbog svojih karakteristika (stabilnost, vreme poluživota, osetljivost, specifičnost) oni se koriste i u praćenju efekata primenjene terapije. Korisno je da biomarkeri sepse i infekcije budu tzv. SMART markeri, što označava početna slova karakteristika koje treba da ima jedan marker sepse. Marker treba da poseduje specifičnost i/ili osetljivost (eng. specific & sensitive), merljivost (eng. measurable) sa visokim stepenom preciznosti, da bude lako dostupan (eng. available), odgovarajuć i ponovljiv (eng. responsive & reproducible) i naravno blagovremen (eng. timely) parametar za izvođenje dijagnoze i terapije. Međunarodne smernice za upravljanje pacijentima sa teškom sepsom i septičkim šokom nalažu da se u roku od šest sati od prvih simptoma moraju prepoznati mesto i žarište infekcije da bi se u roku od jednog sata pokrenula antibiotska terapija. Nakon sumnje u postojanje sepse vreme dijagnoze i dalji tretman su od ključnog značaja. Laboratorijski testovi imaju za cilj da identifikuju ugrožen sistem ili organe, uključujući pokazatelje inflamatornog odgovora u perifernoj krvi (proinflamatorne markere i reaktante akutne faze) kao i markere organskih oštećenja. Savremene preporuke nalažu određivanje vrednosti presepsina i prokalcitonina u toku infekcija kao i njihovu usklađenost sa već pouzdanim parametrima kao što su IL-6, LBP, C-reaktivni protein, broj leukocita, brzina sedimentacije eritrocita i metabolički parametri. Indukcija presepsina je veoma brza i u cirkulaciji on se može naći već nakon dva sata od jakog infektivnog prodora. Presepsin se može koristiti u dijagnozi sepse kao i pri razlikovanju pacijenata kritično obolelih od sepse. Dokazano je da je presepsin jako dobar pokazatelj težine stanja i stepena oštećenja organa koja podrazumevaju stanja teške sepse i septičkog šoka. Indukcija prokalcitonina i porast njegovog nivoa u plazmi povezani su sa širenjem i tipom sistemske inflamacije, a njegova koncentracija se naglo smanjuje nakon saniranja infektivnog žarišta. Prokalcitonin nije samo dobar dijagnostički već i prognostički parametar, marker toka septičkog procesa pouzdan za procenu (ne)uspeha terapijskog tretmana. Veza između ovih parametara i drugih rezultata biohemijskih i hematoloških ispitivanja, znakova i simptoma i rezultata mikrobioloških ispitivanja mora biti uspostavljena. Samo na taj način oni će biti izuzetno korisni u proceni uspeha lečenja i uspostavljanju kliničkih protokola za sepsu.

infectious etiology of the general inflammatory response from other similar conditions would have extraordinary significance. Due to their characteristics (stability, half-life, sensitivity, specificity), they are used in monitoring the effects of therapy. It is useful for biomarkers of sepsis and infection markers to be called SMART, which is composed of the first letters of the characteristics that a marker of sepsis should have. A marker should have specificity and/or sensitivity, measurability with a high degree of precision, be easily accessible and available, adequately responsive and reproducible and a timely parameter to perform diagnosis and therapy. International guidelines for the management of severe sepsis and septic shock recommend to identify the location and focus of infection within 6 hours of symptom onset and within an hour start antibiotic therapy. After suspicion of the existence of sepsis, the time of diagnosis and further treatment are crucial. Laboratory tests are intended to identify compromised systems or organs, including indicators of inflammatory responses in the peripheral blood (proinflammatory markers and acute phase reactants) as well as markers of organ damage. Contemporary recommendations indicate the determination of the values of presepsin and procalcitonin during infection and their compliance with the already reliable parameters such as IL-6, LBP, C-reactive protein, white blood cell count, erythrocyte sedimentation rate, and metabolic parameters. Induction of presepsin is very fast and it can be found in the circulation 2 hours after a severe infectious entry. Presepsin can be used in the diagnosis of sepsis as well as in distinguishing critically ill sepsis patients. It has been proved that presepsin is a very good indicator of the severity of the condition involving severe sepsis and septic shock and the degree of organ damage. Induction of procalcitonin levels and the increase in its plasma levels are associated with the expansion and the type of systemic inflammation, and its concentration is rapidly reduced after the recovery of infectious focal points. Procalcitonin is not only a good diagnostic and prognostic parameter, but also a marker of the course of septic process for reliable assessment of (un)successful therapeutic treatment. The relationship between these parameters and the results of other biochemical and hematological tests, signs and symptoms and the results of microbiological tests must be established. Only then can they be extremely useful in assessing the success of treatment and the establishment of clinical protocols for sepsis.

VODIČI I ALGORITMI ZA ISPITIVANJE TIROIDNE FUNKCIJE: KADA TSH NIJE DOVOLJAN

Miloš Žarković

*Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu,
Beograd, Srbija
Klinika za endokrinologiju, Klinički centar Srbije,
Beograd, Srbija*

TSH se smatra najboljim parametrom za procenu funkcije štitne žlezde. Međutim, upotreba TSH bez određivanja cirkulišućih tiroidnih hormona često nije dovoljna da bi se donela odgovarajuća odluka o dijagnozi ili lečenju, čak može da zavara. Korišćenje samog TSH u dijagnostici poremećaja tiroidne funkcije zasniva se na pretpostavkama o odnosu serumskog TSH i cirkulišućih tiroidnih hormona. Ove pretpostavke su: 1. stacionarno stanje tiroidnih hormona (ne nalazi se tokom lečenja hipertireoze i ranog lečenja hipotireoze), 2. normalan odnos TSH i tiroidnih hormona (za vreme lečenja hipo- ili hipertireoze TSH će ostati van normalnog opsega nedeljama pošto se koncentracije hormona štitne žlezde normalizuju), 3. normalan odgovor tkiva na tiroidne hormone (sindrom tkivne rezistencije na hormone, amiodaron), 4. normalno funkcionisanje hipotalamus-hipofizno-tiroidne osovine (normalan TSH u sekundarnoj hipotireozii). Dakle, određivanje TSH zajedno sa cirkulišućim tiroidnim hormonima neophodno je u više kliničkih scenarija. Ovi scenariji su dijagnostikovanje novog pacijenta (diferencijalna dijagnoza primarne i sekundarne tiroidne disfunkcije), lečenje hipertireoze kao i rano lečenje hipotireoze, dijagnoza sindroma tkivne rezistencije na hormone i trudnoća. Zbog svega navedenog, preporučuje se određivanje TSH zajedno sa cirkulišućim tiroidnim hormonima kod većine pacijenata, dok određivanje samo TSH ostaje rezervisano za pacijente sa dobro poznatim kliničkim statusom.

NAČINI, SREDSTVA I KORISTI OD STANDARDIZACIJE I HARMONIZACIJE ENDOKRINIH TESTOVA

Pierre Carayon

Univerzitet Eks-Marsej, Marsej, Francuska

Današnja medicinska zajednica koristi smernice za kliničku praksu koje pomažu lekarima da donesu najbolje odluke u pogledu zbrinjavanja svojih pa-

GUIDELINES AND ALGORITHMS OF THYROID FUNCTION INVESTIGATION: WHEN TSH IS NOT ENOUGH

Miloš Žarković

*School of Medicine, University of Belgrade,
Belgrade, Serbia
Clinic of Endocrinology, Clinical Centre of Serbia,
Belgrade, Serbia*

TSH is considered to be the best test of thyroid function. However, frequently TSH alone is not sufficient to make an adequate decision on diagnosis or treatment, or can even be misleading. Use of TSH alone is based on assumptions about the relation of serum TSH and circulating thyroid hormones. These assumptions are: 1. steady-state conditions of thyroid hormones (usually not present during treatment of hyperthyroidism and early treatment of hypothyroidism), 2. normal trophic-target hormone relationship (during treatment of hypo- or hyperthyroidism TSH will stay abnormal for weeks after thyroid hormone concentrations are normalized), 3. normal tissue response to hormones (hormone resistance syndrome, amiodarone), 4. normal functioning of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis (normal TSH in secondary hypothyroidism). Therefore, the use of both TSH and circulating thyroid hormones is necessary in multiple clinical scenarios. These scenarios are: diagnosing a new patient (to discriminate between primary and secondary thyroid dysfunction), in monitoring treatment of hyperthyroidism and early treatment of hypothyroidism, to diagnose hormone resistance syndrome, and during pregnancy. Based on these data, it is prudent to measure both TSH and circulating thyroid hormones in the majority of patients, and to reserve TSH only measurements for patients with well-known clinical status.

THE WAYS, MEANS AND BENEFITS OF STANDARDIZATION AND HARMONIZATION OF ENDOCRINE ASSAYS

Pierre Carayon

Aix-Marseille University, Marseille, France

In today's healthcare community, clinical practice guidelines are used to help practitioners make the best care decisions for their patients. These

cijenata. Ove smernice oslanjaju se na rezultate laboratorijskih testova u cilju utvrđivanja načina i sredstava za lečenje pacijenata. Zaposleni u oblasti laboratorijske medicine treba da obrate pažnju na činjenicu da zdravstveni radnici možda nisu svesni da različiti postupci merenja mogu dati različite vrednosti za isti parametar, usled čega nastaje »diskrepancija rezultata«. Odluke o lečenju izvedene na osnovu takve diskrepancije mogu dovesti do pogrešnih kliničkih odluka koje mogu negativno uticati na lečenje pacijenata.

U skladu s navedenim, da bi doneli odgovarajuće odluke o lečenju pacijenata, zdravstveni radnici bi trebalo da primaju »uniformne« rezultate dobijene u kontekstu metoda koje ispunjavaju kriterijume »standardizacije«, koja znači »uniformnost rezultata testova zasnovana na odnosu prema referentnoj metodi«, ili »harmonizacije«, koja znači »uniformnost rezultata testiranja kada referentni metod nije dostupan«. Staviše, »uniformni rezultati« podrazumevaju da je neophodno standardizovati i nomenklaturu testova, uzimanje uzoraka i rukovanje njima, izveštaje o jedinicama i interpretativne informacije. U idealnom slučaju, svi rezultati testiranja trebalo bi da budu standardizovani na osnovu kalibracija koje potiču od referentne metode ili bar referentnog materijala.

Nažalost, broj laboratorijskih testova koji su standardizovani još je veoma mali. Za harmonizovanje rezultata koriste se referentni materijali. Međutim, mnogi dostupni referentni materijali nisu pogodni za upotrebu u kalibraciji rutinskih postupaka testiranja, pre svega zbog neodgovarajuće komutabilnosti sa uzorcima pacijenata (npr. sposobnost referentnog materijala da dozvoli da se njegova svojstva u okviru testa uporede sa svojstvima pokazanim putem autentičnih kliničkih uzoraka kada se mere pomoću više od jednog postupka merenja). U nekim ovakvim slučajevima, harmonizacija po principu konsenzusa može biti korisna za kalibrisanje različitih postupaka merenja kako bi se eliminisale sistematske razlike u prijavljenim vrednostima.

Standardizacija i/ili harmonizacija laboratorijskih testova je vrlo nezgodan zadatak. Zahteva učešće stručnih organizacija, kliničkih društava, *in vitro* dijagnostičke industrije, javnozdravstvenih organizacija, regulatornih agencija, kompanija koje pružaju usluge eksterne provere kvaliteta i mnogih drugih. Bez takve saradnje, kvalitet nege pacijenata može biti umanjen. Umesto toga, lekari mogu pristupiti rešavanju problema diskrepancije tako što će urediti da se svi testovi za pacijente izvode u istoj medicinskoj laboratoriji; to jeste efikasan način da se »standardizuju« laboratorijski testova, ali sve zajedno verovatno skuplji u poređenju s troškovima prave standardizacije i/ili harmonizacije.

Ako pogledamo PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), broj naučnih publikacija koje se odnose na diskrepanciju, probleme kalibracije i/ili rešenja (harmonizaciju i standardizaciju) nije daleko od 100.000, od čega se gotovo polovina tiče *in vitro*

guidelines rely upon laboratory test results to determine the ways and means to treat the patients. People involved in Laboratory Medicine should be concerned that healthcare professionals might not be aware that different measurement procedures may give different values for the same parameter, thus providing »discrepant results«. Treatment decisions based on such discrepancy may lead to erroneous clinical decisions that could negatively impact patient care.

Accordingly, for making adequate care decisions for patients, healthcare professionals should receive »uniform« results obtained in the context of methods fulfilling the criteria of »standardization« which means »uniformity of test results based on relation to a reference method«, or »harmonization« which means »uniformity of test results when a reference method is not available«. Furthermore, »uniform results« imply that it is also necessary to standardize test nomenclature, specimen collection and handling, reporting units and interpretative information. Ideally, all test results should be standardized based on calibrations that are traceable to a reference method or, at least, a reference material.

Unfortunately, the number of laboratory tests that have been standardized remains very small. Reference materials have been used to harmonize results. However, many of the available reference materials are not suitable for use in calibration of routine test procedures primarily due to inadequate commutability with patient samples (i.e., the ability of a reference material to have inter-assay properties comparable to the properties demonstrated by authentic clinical samples when measured by more than one measurement procedure). In some of these cases, harmonization using a consensus approach may be useful to calibrate the different measurement procedures to eliminate systematic differences in reported values.

The standardization and/or harmonization of laboratory tests is a very demanding task. It requires the involvement of professional organizations, clinical societies, the *in vitro* diagnostic industry, public health organizations, regulatory agencies, external quality assessment providers and many others. Without such collaborations, the quality of patient care may be negatively affected. Alternatively, practitioners can approach a solution to the problem of discrepancies by getting all patient tests carried out in the very same medical laboratory; an efficient way to »standardize« laboratory tests, but probably in an overall more expensive way than the cost of genuine standardization and/or harmonization.

Looking to PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), the number of scientific publications dealing with discrepancies, calibration problems and/or solutions (harmonization and standardization) is not far from 100,000, almost half concerning *in vitro* assays. In the frame of the present symposium

testova. U okviru ovog simpozijuma posvećenog pedijatrijskoj laboratorijskoj medicini, čini se vrednim razmotriti diskrepanciju u testovima za dva glikoproteinska hormona: luteinizirajući hormon (LH) i humani horionski gonadotropin (hCG) koji imaju svoje uloge u trudnoći kao i fiziopatologiji majki i dece.

Uz upotrebu testova za monoklonska antitela (mAb) za LH, nekoliko studija je pokazalo da je LH u serumu pacijenata u nekim komercijalnim testovima bio potcenjen ili uopšte nije otkriven, dok je, što je i bilo očekivano, u drugima bio prisutan. Kako bismo donkle rasvetlili ovaj fenomen, mi smo, u Marseju, sproveli multicentričnu studiju koja je uključila proizvođače testova i lekare iz nekoliko evropskih zemalja. Prvo smo okarakterisali veliki skup mAb, uključujući one prisutne u 11 komercijalnih testova. Pet od tih testova se razlikovalo od ostalih šest po tome što su u serumima različitih pacijenata prikazivali snižene ili nepostojeće vrednosti LH u serumu, recimo kod 20% onih sa bubrežnom insuficijencijom. Ovih pet testova se takođe razlikovalo od preostalih šest po upotrebi označenih mAb specifičnih za holomolekul LH. Ovo se pokazalo kao uzrok sniženih ili neotkrivenih LH kod pacijenata sa bubrežnom insuficijencijom. Glavni ishod ove studije bilo je otklanjanje takozvanog nevidljivog LH upotrebom označenih mAb usmerenih na β podjedinicu LH. Ovim se drastično poboljšala upotreba LH testa i, što je važno, dijagnoza prevremenog puberteta.

Što se tiče hCG, situacija je potpuno drugačija od one sa LH. Devet glavnih cirkulatornih oblika i fragmenata hCG su sam hCG, skraćeni hCG, hiperglikozilirani hCG, skraćeni hCG bez C-terminalnog peptida, skraćeni hiperglikozilirani hCG, asijalo hCG, hCG β , skraćeni hCG β i β -core fragment. Poreklo, uloga i fiziopatološki značaj ovih molekularskih oblika mogu biti vrlo različiti. Kada se zahteva hCG test, većina zdravstvenih radnika očekuje da će biti otkriveni svi oblici hCG i izmerene njihove koncentracije. Iz tog razloga je klinički važno da svi testovi otkrivaju sve hCG oblike. Shodno tome, devet glavnih cirkulatornih oblika hCG testirano je pomoću 12 vrsta automatizovanih testova za »ukupni hCG«. Rezultati su bili katastrofalni, pošto nijedan od testova nije otkrio svih devet varijanti; jedan je otkrio osam varijanti, ostalih deset testova je otkrilo četiri do dve varijante a jedan samo jednu varijantu. Da zaključimo, samo jedan test (Siemens Immulite) odgovara gotovo svih primenama, a tri samo za trudnoću. Ozbiljan rad je potreban kako bi se »testovi za ukupan hCG« popravili tako da zadovolje očekivanja zdravstvenih radnika. Rešenje bi moglo doći iz Siemensa jer su performanse testa Immulite sasvim zadovoljavajuće i lako se mogu proširiti na ostala četiri testa koja prodaje Siemens. U pogledu ostalih sedam automatizovanih testova koje prodaju Abbott, Beckman Ortho, Roche i Tosoh, mogu se pronaći odgovarajuća rešenja.

Kakav god bio ishod diskrepancije u testovima, zdravstveni radnici treba da budu obavешteni o ograničenjima testova koji su dostupni na tržištu.

dedicated to pediatric laboratory medicine, it seems worth considering the assay discrepancy of two glycoprotein hormones, luteinizing hormone (LH) and human chorionic gonadotropin (hCG) which both play a role in pregnancy as well as in mother and child physiopathology.

With the use of monoclonal antibody (mAb) assays for LH, several studies have shown that in patients' sera LH was underestimated or not detected at all by some commercial kits and was, as expected, present using other kits. To shed some light on this phenomenon, we, in Marseille, undertook a multicenter study with kit makers and practitioners from several European countries. First, we characterized a large set of mAb including those present in 11 commercial kits. Five of the kits differed from the six others by showing decreased or absent serum LH in sera from various patients, notably 20% of those with renal failure. These five kits also differed from the six others by the use of labeled mAb specific for the LH holomolecule. This was demonstrated as the cause of decreased or no detection of LH in patients with renal failure. The major outcome of this study was to get rid of the so-called »invisible LH« through the use of labeled mAb directed to the β subunit of LH. This dramatically improved the use of the LH assay and, notably, the diagnosis of precocious puberty.

Regarding hCG, the situation is quite different from LH. The nine major circulating forms and fragments of hCG are hCG itself, nicked hCG, hyperglycosylated hCG, nicked hCG missing C-terminal peptide, nicked hyperglycosylated hCG, asialo hCG, hCG β , nicked hCG β and β -core fragment. The origin, role and physiopathological significance of these molecular forms may be very different. When ordering an hCG test, most healthcare professionals expect that all forms of hCG will be detected and their concentration measured. For this reason it is clinically important that all tests detect all hCG forms. Accordingly, the 9 major circulating forms of hCG were tested using 12 types of automated »Total hCG« tests. The results were quite a disaster as none of the tests detected the 9 variants; one detected 8 variants, the 10 other tests detected 4 to 2 variants and one only 1 variant. To conclude, only one test (Siemens Immulite) is appropriate for almost all applications and 3 for pregnancy only. Serious work is needed to improve »Total hCG assays« so as to satisfy the expectations of healthcare professionals. The solution would come from Siemens as the performance of the Immulite test is quite satisfying and could be easily extended to the four other tests marketed by Siemens. Regarding the seven other automated tests marketed by Abbott, Beckman Ortho, Roche and Tosoh, adequate solutions could be found.

Whatever the outcome for assay discrepancy, healthcare professionals should be informed about the limitations of the marketed tests.

KORIŠĆENJE TESTOVA TIROIDNE FUNKCIJE I MEDICINSKO-BIOHEMIJSKA LABORATORIJA

Svetlana Ignjatović

*Katedra za medicinsku biohemiju,
Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu,
i Centar za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije, Beograd, Srbija*

Korišćenje laboratorijskih testova je strategija za obavljanje odgovarajućeg laboratorijskog testiranja sa ciljem pružanja visokokvalitetne i isplative nege pacijenta. Svaka medicinsko-biohemijska laboratorija treba da dizajnira sopstvenu strategiju za korišćenje testova i obezbedi dijagnostičke protokole, uključujući i optimizovane setove zahteva koji su zasnovani na dokazima i dizajnirani tako da pacijent dobije pravi test u pravo vreme. Opšti proces kontrole korišćenja testa uključuje važne informacije o testu (kliničke indikacije, ukupnu vrednost testa, indikacije za test, itd.), algoritme i vodiče sa zahtevom za test i druge alate za pomoć u procesu korišćenja testova (laboratorijski test formular, »pošalji i drži« proces i jasne izveštaje koji treba da integrišu sve nalaze u vezi sa etapama nege). Idealno korišćenje testova funkcije štitaste žlezde (TFT) zahteva aktivnu saradnju medicinsko-biohemijske laboratorije sa kliničkom praksom kako bi se osigurala najefikasnija strategija za testiranje da bi se dobio odgovor na kliničko pitanje. TFT spada među najčešće zahtevane laboratorijske testove i među skuplje »rutinske« testove. Glavno pitanje koje se nameće vezano za tiroidni profil je da li on treba da uključuje i tiroidni stimulišući hormon (TSH) i tiroksin [obično slobodni tiroksin (FT4)] ili samo TSH. Iz tog razloga određivanje samo TSH treba da bude »rutina« kada laboratorija ima dovoljno kliničkih informacija da identifikuje slučajeve u kojima FT4 takođe treba odrediti. Takođe se može koristiti kod stabilnih pacijenata koji su na terapiji zamene tiroksina, kao mera za adekvatnu zamenu i u oportunističkom skriningu za primarnu hipotireozu za odabrane grupe pacijenata (kao što su oni sa dijabetesom tipa 1, žene u menopauzi). Idealno korišćenje TFT takođe uključuje formalni uslov za medicinsko-biohemijske laboratorije za uvođenje mera obezbeđenja kvaliteta kako bi se osiguralo da su sposobne i da pružaju podatke traženog kvaliteta. Takve mere obuhvataju: korišćenje proverenih metoda određivanja, korišćenje definisanih procedura interne kontrole kvaliteta, učešće u programima spoljašnje kontrole kvaliteta rada, akreditaciju na osnovu ISO 15189 i primenu sledivosti rezultata merenja.

UTILIZATION OF THYROID FUNCTION TESTS AND THE MEDICAL-BIOCHEMISTRY LABORATORY

Svetlana Ignjatović

*Department of Medical Biochemistry,
Faculty of Pharmacy, University of Belgrade,
and Center for Medical Biochemistry,
Clinical Centre of Serbia, Belgrade, Serbia*

Laboratory test utilization is a strategy for performing appropriate laboratory testing with the goal of providing high-quality, cost-effective patient care. Each medical biochemistry laboratory needs to design its own strategy for test utilization and provide diagnostic protocols, including optimized request sets, that are evidence-based and designed to make sure that the patient receives the right test at the right time. The overall test utilization control process includes important test information (clinical indications, overall value of the test, test indications, etc), algorithms and test-ordering guidelines and other tools to assist in the test utilization process (laboratory test form, »send and hold« process and clear reports which should integrate all findings associated with the steps of care). Appropriate utilization of thyroid function tests (TFT) requires active engagement with the clinical practice by the medical biochemistry laboratory to ensure that the most effective testing strategy is being used to answer the clinical question. TFTs are among the most frequently ordered laboratory tests and the more expensive »routine« tests. The main question that arises with the thyroid profile is whether it should include both thyroid stimulating hormone (TSH) and thyroxine [usually free thyroxine (fT4)] or TSH alone. For this reason, TSH alone should be »routine« only when the laboratory has sufficient clinical information to identify cases when fT4 should also be measured. It can be used as well in stable patients receiving thyroxine replacement therapy as a gauge to adequate replacement and in opportunistic screening for primary hypothyroidism in selected patient groups (such as those with type 1 diabetes, menopausal women). Appropriate utilization of TFTs also includes a formal requirement for medical biochemistry laboratories to introduce quality assurance measures to ensure that they are capable of and are providing data of the required quality. Such measures include: use of validated methods of analysis, use of defined internal quality control procedures, participation in external quality schemes, accreditation based on ISO 15189 and establishing traceability of the results of measurements.

INDIREKTNO ODREĐIVANJE REFERENTNIH VREDNOSTI ZA PARAMETRE TIROIDNOG STATUSA

*Neda Milinković, Svetlana Ignjatović,
Miloš Žarković, Branimir Radosavljević,
Nada Majkić-Singh*

*Centar za medicinsku biohemiju,
Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti
metabolizma, Klinički centar Srbije, Beograd, Srbija
Katedra za medicinsku biohemiju,
Farmaceutski fakultet, Institut za hemiju u medicini,
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija*

Definisanje adekvatnih referentnih intervala (RI) za tiroidne parametre važno je za praćenje i podršku lečenju bolesti tiroidne žlezde. Dosadašnje preporuke nalažu da svaka laboratorija utvrdi direktnim metodom sopstvene RI za parametre koje određuje. U ovoj studiji su indirektnim metodom izračunati RI za tireostimulirajući hormon (TSH), ukupan i slobodan tiroksin (T4 i fT4), ukupan i slobodan trijodtironin (T3 i fT3). Analizirani su svi rezultati navedenih tiroidnih parametara sačuvani u laboratorijskom informacionom sistemu od 2008. do 2011. godine. Upotrebom odgovarajućih postupaka za retrospektivnu obradu velikog broja podataka izračunati su 2,5 i 97,5 percentil za analizirane parametre. Takođe, testom standardne normalne devijacije (z-test) analizirana je razlika između podgrupa. Dobijena je statistički značajna razlika u vrednostima TSH između ambulatornih i hospitalizovanih pacijenata u 2011. godini ($p < 0,05$). Indirektno izračunati RI za TSH, T4, fT4, T3 i fT3 bili su: 0,42–3,67 mIU/L, 66,0–136,10 nmol/L, 10,20–18,40 pmol/L, 1,10–2,39 nmol/L i 3,17–5,59 pmol/L. Analiziranjem statistički značajne promene (RCV) utvrđeno je da ne postoji značajna razlika između RI dobijenih indirektnim metodom u odnosu na preporučene RI za parametre tiroidnog statusa. Indirektno određivanje RI na osnovu baza podataka specifičnih za laboratorije u kojima su određivani je relativno lak i jeftin metod. Ovo može biti adekvatna alternativa preporučenom komplikovanom i skupom direktnom metodu.

INDIRECT DETERMINATION OF REFERENCE VALUES FOR THE PARAMETERS OF THYROID STATUS

*Neda Milinković, Svetlana Ignjatović,
Miloš Žarković, Branimir Radosavljević,
Nada Majkić-Singh*

*Center for Medical Biochemistry, Clinic for
Endocrinology, Diabetes and Metabolism Disorders,
Clinical Centre of Serbia, Belgrade, Serbia
Institute of Medical Biochemistry, School of
Pharmacy, Institute of Chemistry in Medicine,
School of Medicine, University of Belgrade, Serbia*

Defining adequate reference intervals (RI) for thyroid hormones is an important task for support monitoring and the treatment of thyroid disease. According to the current recommendation each laboratory should determine its own RI for the analyzed parameters. All the results for thyrotropin (TSH), total and free thyroxine (T4 and fT4), total and free triiodothyronine (T3 and fT3) stored in our laboratory information system between 2008 and 2011 were included in this study. Using the appropriate procedures for retrospective processing of a large number of data, we calculated the 2.5th and 97.5th percentiles for the analyzed parameters. Also, the standard normal deviation test (z-test) was performed to reveal the significance of differences between the subgroups. We found a significant difference in TSH values between ambulatory and hospitalized patients in 2011 ($p < 0.05$). Indirect RI for TSH, T4, fT4, T3 and fT3 were 0.42–3.67 mIU/L, 66.0–136.10 nmol/L, 10.20–18.40 pmol/L, 1.10–2.39 nmol/L, and 3.17–5.59 pmol/L, respectively. When we analyzed the reference change value (RCV), we found no significant differences between the RI obtained with the indirect method in relation to the recommended RI for the thyroid parameters. The indirect determination of laboratory-specific RI using patients' laboratory data, obtained during routine laboratory work, is a relatively easy and inexpensive method. This could be an accurate alternative to the laborious and expensive job of producing RI for populations according to the international recommendations.