

LABFORUM

Nowe trendy w **diagnostyce**

nr **76**



Moi Drodzy

Przede wszystkim szczęśliwego Nowego Roku! Dla Was i dla Waszych najbliższych. Niech rok 2021 będzie inny, niech będzie lepszy niż ten, który właśnie minął...

Zapraszam do lektury 76. numeru kwartalnika LabForum. Na łamach poprzedniego numeru miałam przyjemność przedstawić się Państwu jako nowy Dyrektor Marketingu. Tym razem wiadomość, którą chcę się z Państwem podzielić jest niewesoła, otóż Ralf Halbach, Dyrektor Generalny Roche Diagnostics w Polsce będzie kontynuować swoją karierę zawodową poza granicami Polski. W imieniu Roche Diagnostics Polska, chciałabym skorzystać z okazji i na łamach świątecznego numeru LabForum gorąco podziękować ustępującemu Dyrektorowi Generalnemu za jego wkład w rozwój obszaru diagnostyki laboratoryjnej w Polsce przez ostatnie trzy lata. Ten trzyletni okres upłynął wraz z końcem bardzo szczególnego roku w naszej historii – roku pandemii. W najnowszym numerze LabForum rozmawiamy z Panem Ralfem Halbachem o doświadczeniach zawodowych i przeżyciach prywatnych, które stały się jego udziałem podczas pobytu w Polsce.

W marcu, gdy zaczynała się pandemia, większość z nas nawet w najgorszych snach nie przypuszczała, że wirus SARS-COV-2 będzie nam wciąż towarzyszył w okresie Świąt Bożego Narodzenia. Niestety, dziś już wiemy, że ten czarny scenariusz się ziścił i zmienił ten szczególny czas. Mam jednak nadzieję, że nie zdołał odebrać nam magicznego ducha Świąt, gdy byliśmy myślami i sercem z naszymi najbliższymi, niezależnie od tego czy mogliśmy dzielić się z nimi wigilijnymi potrawami przy świątecznym stole, czy niestety nie było nam to dane. Należy być dobrej myśli, że w roku 2021 uda się definitywnie opanować pandemię i będziemy mogli powrócić do dzielenia beztroskich chwil z najbliższymi i przyjaciółmi. Czas pandemii z całą mocą unaoczniał nam potrzebę sprawnego funkcjonowania diagnostyki laboratoryjnej. Dobry program badań diagnostycznych pozwala szybko wykryć patogen i sprawnie odizolować zakażone nim osoby. Roche Diagnostics oraz inne firmy oferują szereg powszechnie stosowanych testów diagnostycznych. Chcemy podziękować wszystkim tym, którzy dzięki swojemu zaangażowaniu i ciężkiej pracy przyczynili się do szerokiej dostępności szybkich i wiarygodnych metod testowania.

W noworocznym numerze LabForum prezentujemy przygotowany przez dr Tomasza Anyszka przegląd wszystkich dostępnych testów stosowanych w diagnostyce COVID-19. Ponadto dr Brygida Beck opowiada o swoich doświadczeniach związanych ze stosowaniem szybkiego testu antygenowego do wykrywania zakażeń wirusem SARS-CoV-2. W walce z COVID-19 rozpoznanie ma fundamentalne znaczenie, należy jednak pamiętać, że w procesie leczenia tego zakażenia ważne jest także wykonywanie określonych testów laboratoryjnych – na naszych łamach Michał Sławiński przypomina o wadze oznaczania cytokin prozapalnych (IL-6 i IL-10) w przebiegu zakażenia COVID-19.

Zwracamy także uwagę na inną aktualną i bardzo istotną kwestię – sezon zimowy to ciemna pora roku na naszej szerokości geograficznej, dlatego dr hab. n. med. Paweł Płudowski podkreśla znaczenie stosowania suplementacji witaminy D w tym okresie.

Czy wirus SARS-COV-2 pozostanie z nami na dłużej? Dziś jeszcze nie umiemy odpowiedzieć na to pytanie... Nawet jeśli uda się go całkowicie pokonać, należy spodziewać się, że w bliższej lub dalszej przyszłości mogą pojawić się inne patogeny o potencjale pandemicznym. Mam jednak nadzieję, że my, jako ludzkość, wyciągniemy wnioski z obecnej sytuacji i będziemy w stanie reagować szybciej i bardziej efektywnie, będziemy szerzej korzystać z osiągnięć diagnostyki laboratoryjnej i wykonywać więcej testów, co pozwoli sprawniej i skuteczniej opanować kolejną pandemię!

Roche Diagnostics Polska wkracza w rok 2021 z nowym Dyrektorem Generalnym, którego bliżej przedstawimy w kolejnym numerze LabForum. Teraz pozostaje mi jeszcze raz z całego serca życzyć Państwu wszystkiego najlepszego w 2021 roku i zaprosić do lektury LabForum!



Karen Vroonhof
Dyrektor Marketingu

Spis treści

<i>Przegląd badań laboratoryjnych dostępnych w diagnostyce COVID-19</i>	3
<i>Wartość oznaczania cytokin zapalnych (IL-6 i IL-10) w przebiegu zakażenia koronawirusem SARS-CoV-2</i>	6
<i>Wykorzystanie badań antygenu wirusa SARS-CoV-2 w czasie przebiegu COVID-19 - doświadczenia własne</i>	9
<i>Od zmierzchu do świtu – witamina D</i>	12
<i>Rozmowa z odchodzącym Dyrektorem Generalnym Roche Diagnostics w Polsce - Ralfem Halbachem</i>	15
<i>Działy Wsparcia Klientów firmy Roche Diagnostics w czasie pandemii COVID-19</i>	17
<i>RCSC - TPM Network: wsparcie Klientów</i>	20

Przegląd badań laboratoryjnych dostępnych w diagnostyce COVID-19

dr n. med. Tomasz Anyszek, Pełnomocnik Zarządu ds. Medycyny Laboratoryjnej,

Diagnostyka sp. z o.o., ul. Prof. M. Życzkowskiego 16, 31-864 Kraków

Badania aktualnie stosowane w diagnostyce COVID-19 można podzielić na 3 grupy:

1. Wykrywanie obecności materiału genetycznego wirusa SARS-CoV-2 w wymazie z dróg oddechowych za pomocą metody real time RT-PCR (badanie molekularne).
2. Wykrywanie obecności antygenów białkowych wirusa SARS-CoV-2 w wymazie z dróg oddechowych za pomocą testów antygenowych (testy antygenowe).
3. Oznaczanie stężenia przeciwciał anti-SARS-CoV-2 w próbce krwi żyłnej (badanie serologiczne).

Badanie molekularne (metoda real time RT-PCR) wymazu z dróg oddechowych jest rekomendowane przez WHO^[1] i uznawane powszechnie za „złoty standard” do rozpoznawania infekcji wirusem SARS-CoV-2. Metodyka RT-PCR jest stosowana z powodzeniem w diagnostyce medycznej od lat, a szczególnie właśnie przy diagnozowaniu infekcji wirusowych (np. wirusowe zapalenia wątroby, grypa). Stąd też przystosowanie się działających laboratoriów biologii molekularnej do wykrywania nowego patogenu nie zajęło wiele czasu, a dodatkowo powstało wiele nowych jednostek. W efekcie tego w Polsce działa około 250 laboratoriów^[2] wykonujących badania RT-PCR wykrywające obecność wirusa SARS-CoV-2, a liczba laboratoriów działających na świecie jest liczona w dziesiątkach tysięcy.

Laboratoria wykorzystują metody RT-PCR wykrywające co najmniej dwa fragmenty genomu SARS-CoV-2, a dostępne są także metody trój- i czterogenowe. Taka metodyka pociąga za sobą ściśle określony sposób przedstawiania wyników: wynik pozytywny oznacza wykrycie co najmniej dwóch genów wirusa, wynik negatywny nie wykrycie żadnego, a wynik nierozstrzygający wykrycie jednego genu (takie badanie należy jak najszybciej wykonać ponownie z nowo pobranego materiału). Wynik może być także wyrażany jako niediagnostyczny w przypadku, kiedy nie jest możliwe prawidłowe wykonanie badania np. z powodu niespecyficznych inhibitorów reakcji obecnych w badanym materiale. Pozytywny wynik badania pojawia się zazwyczaj już w 5-7 dniu od zakażenia. Uzyskanie dodatniego wyniku badania, szczególnie przy występowaniu objawów klinicznych infekcji, jednoznacznie potwierdza rozpoznanie COVID-19. Pozytywny wynik badania molekularnego obserwuje się przez okres trwania objawów klinicznych i jeszcze kilka-kilkanaście dni później, ale w niektórych przypadkach może on utrzymywać się u ozdrowieńców nawet do 3 miesięcy po wyzdrowieniu. Dlatego też badanie molekularne nie jest wyznacznikiem ozdrowienia i braku zakaźności i jego pozytywny wynik u ozdowieńca nie świadczy o tym, że jest on wciąż chory i zakaźny^[3]. Z tego wynika też wniosek, że pozytywny wynik badania molekularnego uzyskany u pacjenta bez objawów klinicznych może świadczyć o bezobjawowym przebiegu infekcji, ale może być także konsekwencją infekcji przebytej bezobjawowo lub skąpoobja-

wowo w okresie ostatnich dni lub tygodni. Niezależnie od tego, ze względu na bezpieczeństwo epidemiczne, każdy pierwszorazowy pozytywny wynik badania molekularnego uzyskany przez danego pacjenta skutkuje nałożeniem na niego kwarantanny. Negatywny wynik badania molekularnego uzyskany u osoby bez objawów klinicznych w praktyce potwierdza brak infekcji w momencie badania. Natomiast pojedynczy ujemny wynik badania molekularnego uzyskany u osób z objawami klinicznymi nie wyklucza zakażenia i nie może być traktowany jako jedyne kryterium diagnostyczne. W niektórych przypadkach, jeżeli objawy kliniczne utrzymują się, powinno podjąć się decyzję o powtórnym wykonaniu badania molekularnego^[3].

Niezmiernie ważnym problemem przy badaniu wymazów z dróg oddechowych jest prawidłowe pobranie materiału i jego zabezpieczenie. Metodą z wyboru przy pobraniu jest wymaz z nosogardzieli (ewentualnie „wzmocniony” przez dodatkowy wymaz z nozdrzy)^[4]. Natomiast stabilność materiału po pobraniu można zapewnić poprzez stosowanie specyficznych podłoży/zestawów do pobrania, które inaktywują wirusa obecnego w pobranym materiale i stabilizują jego materiał genetyczny. Przy pobieraniu materiału bez stosowania podłoży/zestawów stabilizujących kluczowe jest jak najszybsze dostarczenie materiału do laboratorium i rozpoczęcie procedowania próbki (maksymalnie kilka godzin). Niestety dłuższe przetrzymanie próbki przed badaniem może skutkować degradacją materiału genetycznego wirusa i uzyskaniem wyniku fałszywie negatywnego.

Oprócz klasycznej metody RT-PCR do diagnostyki COVID-19 wykorzystywane są szybkie testy molekularne dostępne na kilku platformach analitycznych (np. Roche LIAT, Cepheid GenXpert). Ich ogromną zaletą jest możliwość uzyskania wyniku badania już po kilkudziesięciu minutach, a wadą brak gwarancji zapewnienia ciągłości dostaw odczynników przez producentów, co nie dziwi, gdyż technologia ta jest pożądana obecnie na całym świecie. W związku z tym działające w Polsce analizatory wykonujące szybkie testy molekularne muszą być traktowane jako narzędzie wykorzystywane do specjalnych zastosowań (najczęściej wspierające szpitalne SORy) i stanowią one jedynie dodatek do diagnostyki realizowanej za pomocą klasycznej metodyki RT-PCR.

Wymazowe testy antygenowe zostały wprowadzone do szerokiego użytkowania w ostatnich tygodniach i traktowane są jako narzędzie wspierające do diagnostyki COVID-19. Ich zaletą jest szybkie uzyskanie wyniku, stosunkowo niski koszt i wysoka swoistość. Oznacza to, że pozytywny wynik uzyskany za pomocą testu antygenowego potwierdza infekcję SARS-CoV-2. Dlatego też Ministerstwo Zdrowia dodało uzyskanie dodatniego wyniku testu antygenowego do kryteriów rozpoznania COVID-19^[3] i osoby, które uzyskały taki wynik są kierowane na kwarantannę. Niestety testy antygenowe charakteryzują się niższą, w stosunku do badań molekularnych, czułością (pomiędzy 80% a 90%), co oznacza, że wynik negatywny nie jest podstawą do wykluczenia infekcji,

a szczególnie w przypadku, gdy występują jednocześnie objawy kliniczne. W takich przypadkach wskazana jest weryfikacja i wykonanie uznanego za referencyjne badania molekularnego. Testy antygenowe są pozytywne w okresie aktywnej infekcji, a wynik tego badania jest zawsze negatywny u ozdrowieńców. Dlatego też coraz większa grupa ekspertów proponuje wykorzystanie testów antygenowych do potwierdzania zakaźności pacjenta, gdyż każdy pacjent z dodatnim wynikiem testu antygenowego jest zakaźny. Stąd też koncepcja badania osób po przebytej infekcji w celu upewnienia się, że nie stanowią oni zagrożenia epidemicznego, gdyż uzyskanie wyniku negatywnego testu przy braku występowania objawów klinicznych infekcji praktycznie wyklucza taką możliwość. Oczywiście, w związku z niewystarczającą wartością predykcijną ujemną, ujemny wynik testu nie może być traktowany jako pewne potwierdzenie braku zakaźności.

Testy antygenowe dostępne są jako szybkie testy kasetkowe (jakościowe) oraz ilościowe badania wykonywane przez automatyczne analizatory immunochemiczne. Pierwsze rozwiązanie może być wykorzystane w laboratoriach oraz w trybie POCT (ang. point-of-care testing) tzn. w miejscu opieki nad pacjentem np. na Szpitalnym Oddziale Ratunkowym. Zaletą szybkich testów kasetkowych jest krótki czas potrzebny dla uzyskania wyniku, a wadą subiektywizm odczytu wyniku przez oko ludzkie i jakościowa forma wyniku (pozytywny/negatywny). Bardziej wiarygodnym z tego punktu widzenia rozwiązaniem jest automatyczne ilościowe oznaczanie antygenów, które gwarantuje obiektywne wyrażenie wyniku w sposób ilościowy, a cały proces laboratoryjny jest ściśle kontrolowany, jednak wymaga to kilku godzin czasu. Dodatkowym wyzwaniem jest konieczność zapewnienia odpowiedniej jakości i wiarygodności testów wykonywanych w trybie POCT. W związku z tym Krajowa Rada Diagnostów Laboratoryj-

nych w stanowisku z 17.11.2020 r.^[6] wskazała konieczność uczestnictwa medycznego laboratorium diagnostycznego w koordynacji procesu badań POCT, przywołała wymagania zdefiniowane dla procesu POCT, a zawarte w normie PN-EN 22870:2017^[6] oraz poruszyła problemy związane z prowadzeniem dokumentacji medycznej w procesie POCT i raportowaniem uzyskanych wyników. Czas pokaże jak będzie zorganizowane wykonywanie wymazowych testów antygenowych w Polsce w najbliższych miesiącach.

Warto wspomnieć o kryteriach jakościowych jakie muszą spełnić stosowane wymazowe testy antygenowe. Zgodnie z wytycznymi WHO testy te muszą charakteryzować się co najmniej 97% swoistością i 80% czułością (obie wartości uzyskane u pacjentów objawowych)^[7] i najlepiej, gdyby te wartości zostały potwierdzone w niezależnych badaniach eksperckich. Kryteria te spełnia kilka dostępnych na rynku testów, a zapewne niebawem pojawią się kolejne.

Badania serologiczne czyli oznaczanie stężenia przeciwciał anti-SARS-CoV-2 w próbce krwi żyłnej znajdują zastosowanie raczej jako narzędzie do potwierdzania przebiecia infekcji i wnioskowania o uzyskaniu odporności, niż narzędzie do rozpoznawania aktywnej fazy zakażenia. Wykrycie obecności przeciwciał anti-SARS-CoV-2 potwierdza przebyty kontakt z wirusem, najprawdopodobniej w formie objawowej lub skąpoobjawowej infekcji. Wykrycie przeciwciał anti-SARS-CoV-2 u pacjentów z uprzednio rozpoznany COVID-19 (przy pomocy testu molekularnego lub testu antygenowego) potwierdza prawidłowość rozpoznania, natomiast obecność przeciwciał u osób, u których nie uzyskano uprzednio pozytywnego wyniku badań wymazowych, świadczy najpewniej o bezobjawowym przebiegu infekcji. O ile obecność przeciwciał anti-SARS-CoV-2 potwierdza kontakt



z wirusem w przeszłości, o tyle brak przeciwciał nie daje podstaw do wnioskowania o nie przebyciu infekcji. Dzieje się tak z dwóch powodów – po pierwsze pewien odsetek pacjentów (około 10%) po przebyciu infekcji nie wytwarza przeciwciał w wykrywalnych stężeniach, a u części przeciwciała pojawiają się, ale ich stężenie ulega szybkiej redukcji i po kilku tygodniach po infekcji badanie może dać wynik ujemny.

Badania serologiczne mogą mieć znaczenie przy wnioskowaniu o uzyskaniu odporności na ponowną infekcję koronawirusem. Obecność przeciwciał, jak i ich wysokie stężenie mogą być traktowane jako pewne pozytywne przesłanki co do statusu odporności na ponowne zakażenie, ale nie są jej jedynym wyznacznikiem. Wprawdzie nasza wiedza o nowej chorobie jaką jest COVID-19 nie jest jeszcze pełna, ale możemy wnioskować przez analogię do innych znanych infekcji wirusowych, że przechorowanie i wyprodukowanie przeciwciał daje odporność na ponowną infekcję. Tak jak w innych chorobach – im wyższe stężenie przeciwciał tym mniejsze ryzyko ponownej infekcji, chociaż znowu warto podkreślić, że niskie stężenie lub nawet brak przeciwciał nie oznacza, że organizm jest bezbronny, a ponowna infekcja jest nieuchronna.

Obecnie dostępna jest szeroka paleta badań serologicznych opartych o technologię ELISA, CMIA lub CLIA. Badania te wykonują najczęściej automatyczne analizatory i wyrażają wyniki w postaci półilościowej lub ilościowej.

W praktyce stosowane są dwie strategie badania.

Pierwsza proponuje oznaczanie przeciwciał w dwóch klasach: IgM (lub alternatywnie IgA) i IgG. Obecność przeciwciał „fazy ostrej” IgM (lub IgA) może świadczyć o wczesnej fazie zdrowienia lub nawet jeszcze aktywnej chorobie, gdyż te przeciwciała są produkowane jako pierwsze już w drugim tygodniu od zainfekowania. Obecność przeciwciał „fazy przewlekłej” IgG świadczy raczej o późniejszym okresie zdrowienia lub nawet o przebyciu choroby przed tygodniami, a nawet miesiącami. To właśnie ta klasa przeciwciał w dużej mierze determinuje nabytą odporność

na ponowną infekcję. W praktyce osoby, u których wykrywa się przeciwciała IgM (przy braku lub w obecności przeciwciał IgG) powinny zostać zweryfikowane za pomocą badań wymazowych, aby wykluczyć aktywną infekcję, natomiast osoby z obecnymi jedynie przeciwciałami IgG najpewniej przeszły infekcję i są odporne (przynajmniej na jakiś czas) na ponowne zakażenie. Ważną zasadą jest nie badanie obu klas przeciwciał IgM (lub IgA) i IgG, ewentualnie tylko klasy IgG (przy ocenie kontaktu lub choroby przebytej przed co najmniej kilkoma tygodniami). Nie jest zasadne wykonywanie badania przeciwciał jedynie w klasie IgM (lub IgA)^[8], gdyż wynik dodatni IgM (lub IgA), przy braku wyniku dla klasy IgG, uniemożliwia prawidłową interpretację kliniczną przypadku.

Druga strategia badań to oznaczanie przeciwciał całkowitych, bez podziału na klasy. Badanie przeciwciał całkowitych zapewnia wyższą swoistość niż badanie przeciwciał w dwóch klasach. U pewnego odsetka pacjentów, szczególnie tych z innymi infekcjami lub chorobami autoimmunologicznymi, obserwować można reakcje krzyżowe powodujące uzyskanie fałszywie pozytywnego wyniku badania, szczególnie w klasie IgM (lub IgA). W przypadku oznaczania przeciwciał całkowitych takie próbki dają zazwyczaj wynik ujemny, podczas gdy wszystkie próbki z obecnymi przeciwciałami IgG dają wynik dodatni. To powoduje, że przeciwciała całkowite anty-SARS-CoV-2 stanowią ciekawą alternatywę dla oznaczania przeciwciał w dwóch klasach, szczególnie przy ocenie nabycia odporności i wykrywaniu pacjentów, którzy bezobjawowo przeszli infekcję.

Rola badań serologicznych w COVID-19 bez wątpienia wzrośnie wraz z rozpoczęciem planowanych na globalną skalę szczepień. Oznaczanie stężenia przeciwciał jest bowiem naturalnym sposobem oceny skuteczności szczepienia, które musi doprowadzić do pojawienia się przeciwciał odpornościowych anty-SARS-CoV-2. Wtedy też zapewne będziemy mogli porównać między sobą poszczególne dostępne metody oznaczania przeciwciał anty-SARS-CoV-2 na dużej liczbie przypadków, a być może uda się także zdefiniować pożądaną po szczepieniu wartość stężenia przeciwciał będącą potwierdzeniem nabycia odporności.

Piśmiennictwo

1. „Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected humans cases”. Interim Guidance, 19 March 2020. World Health Organization.
2. Lista lab COVID prowadzona przez Ministerstwo Zdrowia. <https://www.gov.pl/web/zdrowie/lista-laboratoriow-covid>
3. Stanowisko Zespołu do spraw koordynacji sieci laboratoriów COVID w sprawie możliwości wykorzystania testów wykrywających antygen SARS-CoV-2 w diagnostyce COVID-19 w Polsce z dnia 03 listopada 2020 r.
4. Zasady pobierania i transportu materiału do badań metodami molekularnymi RT-PCR w kierunku SARS-CoV-2 wg Konsultanta Krajowego w dziedzinie mikrobiologii lekarskiej, Prof. Katarzyna Dzierżanowska-Fangrat oraz zespołu konsultanci wojewódzcy w dziedzinie mikrobiologii lekarskiej: Tomasz Ozorowski, Krzysztof Burdynowski, Alina Olender, Bonita Durnaś, Gajane Martirosjan, Anetta Bartczak, Marzena Bartoszewicz, Małgorzata Bulanda, Piotr Wieczorek, Aleksander Deptuła, Joanna Jursa-Kulesza, Jadwiga Ślusarska-Kopala, Ewa Augustynowicz-Kopeć oraz Anna Mól, Beata Kasztelewicz. 14 kwietnia 2020 r.
5. Stanowisko KRDL z dnia 17 listopada 2020 r. odnośnie wykonywania badań szybkimi testami antygenowymi u pacjentów z podejrzeniem zakażenia SARS-CoV-2.
6. PN-EN ISO 22870:2018-02 „Badania w miejscu opieki nad pacjentem – wymagania dotyczące jakości i kompetencji.”
7. „Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays.” Interim Guidance, 11 September 2020. World Health Organization.
8. Przydatność badań serologicznych przeciwko SARS-CoV-2 z punktu widzenia zdrowia publicznego – Zalecenia Polskiego Stowarzyszenia Naukowego „Zagrożenia Cywilizacyjne i Zdrowie Publiczne”, 21 sierpnia 2020 r.

Wartość oznaczania cytokin zapalnych (IL-6 i IL-10) w przebiegu zakażenia koronawirusem SARS-CoV-2

mgr Michał Sławiński, Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny nr 2 w Szczecinie

Choroba COVID-19 wywołana przez nowo zidentyfikowanego koronawirusa obejmuje szereg objawów klinicznych, od łagodnych, samoograniczających się, do stanu hiper-zapalnego (burzy cytokinowej), po którym następuje zespół ostrej niewydolności oddechowej. W opracowaniu przedstawiono podstawowe informacje dotyczące roli oznaczania cytokin zapalnych (interleukiny-6 i interleukiny-10), jako kandydatów na markery pozwalające przewidywać krytyczny przebieg zakażenia.

Choroba COVID-19

W grudniu 2019 roku w chińskiej prowincji Hubei rozpoczął się nagły „wybuch” nowych przypadków zapalenia płuc o nieznanym pochodzeniu, co wywołało globalne obawy zdrowotne związane z łatwością jego przenoszenia. Aby szybko zdiagnozować i opanować wysoce zakaźną chorobę, podejrzane osoby izolowano, opracowując jednocześnie procedury diagnostyczne i terapeutyczne. Ustalono, że czynnikiem wywołującym wspomniane zapalenia płuc jest wirus SARS-CoV-2 należący do rodziny koronawirusów. U 80% objawowych chorych choroba ma postać łagodną, z łagodnym zapaleniem płuc lub bez. Objawy kliniczne obejmują przede wszystkim gorączkę, ale również stan podgorączkowy, suchy kaszel, zmęczenie, bóle mięśni oraz niewielką duszność. U 14% objawowych pacjentów występuje ciężki przebieg choroby z zajęciem ponad 50% mięszu płuc, z objawami takimi jak: znaczna duszność spoczynkowa, przyspieszony oddech (>29 oddechów na minutę), wysycenie hemoglobiny tlenem poniżej 94% i wskaźnik oksygenacji (PiO_2/FiO_2) poniżej 300 mm Hg. Pozostałe 6% pacjentów ma przebieg krytyczny z ARDS, wstrząsem septycznym i niewydolnością wielonarządową^[1,2]. Wyżej wymienionym objawom mogą towarzyszyć dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego, które dotyczą niemalże połowy chorych.

Cytokiny – „hormony” układu odpornościowego

Cytokiny to cząsteczki regulujące różnorodne procesy, do których zaliczyć możemy m.in. proliferację, różnicowanie czy też ruchliwość komórek. Poprzez oddziaływanie na różnego typu komórki, cytokiny są mediatorami reakcji obronnych organizmu^[3]. Uczestniczą również w regulacji krwiotworzenia. Cechami charakterystycznymi cytokin są pleiotropia (wielokierunkowość), czyli zdolność określonej cytokiny do oddziaływania na wiele różnych komórek, oraz redundancja, czyli właściwość różnych cytokin do wywierania takiego samego efektu działania. Niektóre z nich mogą działać antagonistycznie wobec siebie, inne natomiast potrafią osiągać efekt synergistyczny. Ich wielozadaniowość sprawia, że nie możemy postawić wyraźnej granicy w działaniu między cytokinami biorącymi udział w poszczególnych etapach pobudzania i dojrzewania limfocytów. Mogą one z jednej strony stymulować proliferację i różnicowanie, a z drugiej – mogą czasami hamować te procesy doprowadzając nawet do apoptozy komórek, na które wywierają wpływ. Obecnie zidentyfikowano przeszło sto kilkadziesiąt cytokin, jednak ich liczba nieustannie ulega powiększaniu.

Interleukina-6 (IL-6)

Jest cytokiną pleiotropową, wykazującą różnorodne działanie na komórki układu odporności nabytej i wrodzonej. Może być uznawana za jeden z centralnych czynników regulujących mechanizmy obronne organizmu^[4]. IL-6 jest glikoproteiną zbudowaną z 184 aminokwasów a jej gen zlokalizowany jest na ramieniu krótkim 7 chromosomu (7p15-p21). Produkowana jest przez komórki układu immunologicznego: limfocyty typu B i T, monocyty, neutrofile, komórki NK, a także przez szereg innych komórek takich jak: fibroblasty, komórki śródbłonna, keratynocyty, komórki mięśniowe, a także adipocyty. Należy do grupy cytokin wykazujących podobne działanie, których receptory składają się z odmiennych łańcuchów a wiążących ligand i identycznego łańcucha β (gp130, CD130) – niewiążącego ligandu, ale przenoszącego sygnał do wnętrza komórki. Wzrost syntezy IL-6 następuje wskutek aktywacji wymienionych komórek przez interleukinę-1 (IL-1), interferony (INF), czynniki martwicy guza (TNF), lipopolisacharydy oraz wirusy DNA i RNA^[5]. Do funkcji IL-6 zaliczyć możemy:

- stymuluje końcowe różnicowanie się limfocytów B w kierunku komórek uwalniających immunoglobuliny różnych klas;
- uczestniczy wraz z IL-1 w aktywacji limfocytów T rozpoznających antygen;
- obok IL-1 i TNF- α jest jednym z czynników podwyższających temperaturę ciała;
- w reakcji ostrej fazy jest stymulatorem syntezy białek ostrej fazy w wątrobie np. białka C-reaktywnego, surowiczego amyloidu A, haptoglobiny, α_1 -antytrypsyny. W stanach zapalnych dochodzi do nawet 100-krotnego wzrostu stężenia IL-6.

Interleukina 10 (IL-10)

Interleukina-10 spełnia szereg funkcji odpowiedzi immunologicznej, które w efekcie hamują odpowiedź typu komórkowego i odpowiedź zapalną. Strukturalnie przypomina interferony i wraz z kilkoma innymi interleukinami tworzy grupę 9 cytokin (IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28A, IL-28B oraz IL-29). Produkowana jest głównie przez aktywowane limfocyty T, szczególnie Treg (Tr1) oraz Th, ale także przez limfocyty B, monocyty, makrofagi, neutrofile, komórki tuczne a nawet keratynocyty^[6]. Receptor dla

IL-10 – IL10R znajduje się na powierzchni makrofagów, monocytów, limfocytów T i B oraz komórek NK. Składa się z dwóch podjednostek: podjednostki α i podjednostki β . Wielokierunkowe działanie IL-10 obejmuje między innymi: hamowanie produkcji cytokin przez limfocyty Th1 (szczególnie interferonu gamma, IL-2 i IL-3), hamowanie proliferacji limfocytów Th1 pobudzonych przez antygen, hamowanie produkcji cytokin przez monocyty i makrofagi (interleukin 1, 6, 8, 12, G-CSF, GM-CSF, TNF- α), hamowanie wytwarzania przez makrofagi reaktywnych związków tlenowych i tlenu azotu, stymulację produkcji antagonisty dla receptora interleukiny-1, oraz pobudzanie wzrostu i różnicowania aktywowanych limfocytów^[7]. IL-10 zalicza się do substancji o potencjale antyaterogennym. Przez swoje działanie przyczynia się do przesunięcia różnicowania się linii limfocytarnej w kierunku odpowiedzi typu Th2 – humoralnej.

Burza cytokinowa w przebiegu zakażenia koronawirusem

Uwalnianie dużych ilości cytokin prozapalnych określane jest, jako burza cytokinowa i związane jest z różnymi infekcyjnymi czynnikami wywołującymi zespoły uogólnionej reakcji zapalnej (SIRS)^[8]. Do czynników tych śmiało możemy zaliczyć ludzkie koronawirusy (hCoV), które można podzielić na koronawirusy nisko zjadliwe i wysoce zjadliwe. Nisko zjadliwe hCoV infekują górne drogi oddechowe i powodują łagodne, podobne do przeziębienia choroby układu oddechowego. W przeciwieństwie do nich wysoce patogenne hCoV, takie jak ciężki ostry zespół niewydolności oddechowej SARS-CoV (2003r.) oraz bliskowschodni zespół niewydolności oddechowej MERS (2012r.) zakażają głównie dolne drogi oddechowe i powodują ciężko przebiegające zapalenie płuc^[9,10]. Zapalenie płuc wywołane przez patogenne hCoV jest często związane z szybką replikacją wirusa, rozległym naciekiem komórek

zapalnych i podwyższonymi prozapalnymi odpowiedziami cytokin, prowadzącymi do ostrego uszkodzenia płuc i zespołu ostrej niewydolności oddechowej (ARDS). Do przyczyn odgrywających kluczową rolę w inicjacji i progresji zaostrej reakcji zapalnej w przebiegu zakażenia koronawirusami możemy zaliczyć:

- szybką replikację wirusa: szybka replikacja może prowadzić do nasilenia efektów cytopatycznych i nasilonego wytwarzania cytokin. Cytokiny te z kolei odpowiedzialne są za masową infiltrację komórek zapalnych do płuc;
- zakażenie koronawirusami komórek nabłonka dróg oddechowych i / lub pęcherzyków płucnych: badania na modelach zwierzęcych, zwłaszcza mysich, dostarczają dowodów na istotną rolę pneumocytów typu I i II zakażonych hCoV w nasileniu reakcji zapalnej;
- opóźnioną odpowiedź interferonu (IFN): koronawirusy kodują wiele strukturalnych i niestrukturalnych białek, które antagonizują odpowiedzi zależne od interferonu, co może powodować rozregulowanie odpowiedzi immunologicznej np. uwrażliwienie limfocytów T na apoptozę;
- nasiloną migrację monocytów-makrofagów oraz gromadzenie się neutrofili: wykazano gromadzenie zapalnych monocytów-makrofagów i neutrofili w płucach po zakażeniu hCoV. W związku z tym, że komórki te są głównym źródłem cytokin przypuszcza się, że mają one związek z ciężkością przebiegu zakażenia i późniejszymi powikłaniami.

Natomiast do konsekwencji zaostrej reakcji zapalnej przebiegającej pod postacią burzy cytokinowej zaliczać będziemy:



- apoptozę komórek nabłonka i śródbłonka płuc oraz przeciek naczyń: jedną z najwcześniejszych konsekwencji szybkiej replikacji wirusa i intensywnej prozapalnej odpowiedzi cytokin jest apoptoza komórek nabłonka i śródbłonka płuc wywołana m.in. przez IFN- $\alpha\beta$ i IFN- γ . Zjawisko to powoduje osłabienie bariery mikronaczyniowej płuc i komórek nabłonka pęcherzyków płucnych, co prowadzi do przecieku naczyniowego i obrzęku pęcherzyków płucnych, ostatecznie prowadząc do niedotlenienia^[11];
- suboptymalną odpowiedź limfocytów T: silne reakcje zapalne wywołane przez koronawirusa osłabiają odpowiedź limfocytów T. W przypadku zakażenia SARS-CoV-2 dzieje się to poprzez apoptozę limfocytów T, w której pośredniczy TNF, powodując w ten sposób niekontrolowaną odpowiedź zapalną^[12];
- akumulację aktywowanych makrofagów i zmienioną homeostazę tkanek: u niektórych pacjentów z przedłużonym czasem trwania choroby występuje zwłóknienie przestrzeni śródmiąższowej i pęcherzykowej oraz przerost pneumocytów^[13];
- ARDS (zespół ostrej niewydolności oddechowej): mediatorzy zapalne odgrywają kluczową rolę w patogenezie ARDS, głównej przyczyny zgonów u pacjentów zakażonych SARS-CoV-2. Istotną rolę odgrywają tutaj cytokiny prozapalne, w tym IL-6, IL-8, IL-1 β i GM-CSF oraz reaktywne formy tlenu. Dodatkowo niekontrolowana proliferacja komórek nabłonka i upośledzona przebudowa tkanki w późniejszych stadiach wywołują ARDS prowadzące do zwłóknienia płuc i dysfunkcji narządowej^[14].

Zastosowanie IL-6 i IL-10 w monitorowaniu zespołu uogólnionej reakcji zapalnej (SIRS)

Na podstawie przeprowadzonych retrospektywnych badań dotyczących czasu przeżycia pacjentów z COVID-19, IL-6 okazała się jednym z najważniejszych czynników prognostycznych.

Wzrost IL-6 koreluje z ciężką odpowiedzią układu odpornościowego na zakażenie SARS-CoV-2, definiowaną, jako rozwój uogólnionej reakcji zapalnej oraz ARDS^[15]. Wczesny wzrost stężenia IL-6 może identyfikować pacjentów, którzy wymagać będą w trakcie hospitalizacji procedur z zakresu intensywnej terapii. Dodatkowym atutem wykorzystania tej cytokiny, jako wskaźnika ciężkiego przebiegu choroby jest w pełni zautomatyzowana metoda immunochemiczna służąca do oznaczania jej stężenia. Stosowana jest ona w chwili obecnej w rutynowej diagnostyce laboratoryjnej. Drugim kandydatem mogącym służyć do oceny ciężkości przebiegu zakażenia jest IL-10^[15]. Podwyższone stężenia tej cytokiny również korelują z ciężkim przebiegiem SARS-CoV-2, jednak utrudnieniem w chwili obecnej jest brak zautomatyzowanych metod diagnostycznych stosowanych w laboratoriach szpitalnych.

W zaleceniach Ministerstwa Zdrowia z dnia 22.10.2020 roku dotyczących opieki nad pacjentem z chorobą koronawirusową (COVID-19) wymagającym hospitalizacji przedstawiono konieczność oznaczania stężenia IL-6 w pierwszych badaniach laboratoryjnych pobranych tuż po przyjęciu do szpitala. Następnie w 3, 5, 7, 10 dobie hospitalizacji, aż do 48 godzin przed wypisaniem pacjenta ze szpitala. Każde pogorszenie stanu zdrowia pacjenta, również bezwzględnie wymaga wykonania oznaczenia stężenia tej cytokiny.^[16]

Piśmiennictwo

1. Yang X, Yu Y, Xu J, et al. . Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med.* 2020 Feb 24. doi:10.1016/s2213-2600(20)30079-5.
2. Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. . Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med.* 2020 Feb 18. doi:10.1016/s2213-2600(20)30076-x.
3. Oppenheim JJ. The Future of the Cytokine Discipline. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2018 Sep 4;10(9):a028498. doi: 10.1101/cshperspect.a028498. PMID: 28847901; PMCID: PMC6120697.
4. Rose-John S. Interleukin-6 Family Cytokines. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2018 Feb 1;10(2):a028415. doi: 10.1101/cshperspect.a028415. PMID: 28620096; PMCID: PMC5793756.
5. Gołqb J., Jakóbsiak M., Lasek W. i wsp.: Cytokiny. *Immunologia*. Warszawa, Wyd. Nauk PWN 2002; 15: 198–205.
6. Saraiva M, Vieira P, O'Garra A. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. *J Exp Med.* 2020 Jan 6;217(1):e20190418. doi: 10.1084/jem.20190418. PMID: 31611251; PMCID: PMC7037253.
7. Iyer SS, Cheng G. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. *Crit Rev Immunol.* 2012;32(1):23-63. doi: 10.1615/critrevimmunol.v32.i1.30. PMID: 22428854; PMCID: PMC3410706.
8. Channappanavar R, Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin Immunopathol.* 2017 Jul;39(5):529-539. doi: 10.1007/s00281-017-0629-x. Epub 2017 May 2. PMID: 28466096; PMCID: PMC7079893.
9. Gu J, Gong E, Zhang B, Zheng J, Gao Z, Zhong Y, Zou W, Zhan J, Wang S, Xie Z, Zhuang H, Wu B, Zhong H, Shao H, Fang W, Gao D, Pei F, Li X, He Z, Xu D, Shi X, Anderson VM, Leong AS. Multiple organ infection and the pathogenesis of SARS. *J Exp Med.* 2005 Aug 1;202(3):415-24. doi: 10.1084/jem.20050828. Epub 2005 Jul 25. PMID: 16043521; PMCID: PMC2213088.
10. Ng DL, Al Hosani F, Keating MK, Gerber SI, Jones TL, Metcalfe MG, Tong S, Tao Y, Alami NN, Haynes LM, Mutei MA, Abdel-Wareth L, Uyeki TM, Swerdlow DL, Barakat M, Zaki SR. Clinicopathologic, Immunohistochemical, and Ultrastructural Findings of a Fatal Case of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Infection in the United Arab Emirates, April 2014. *Am J Pathol.* 2016 Mar;186(3):652-8. doi: 10.1016/j.ajpath.2015.10.024. Epub 2016 Feb 5. PMID: 26857507; PMCID: PMC7093852.
11. Herold S, Steinmueller M, von Wulffen W, Cakarova L, Pinto R, Pleschka S, Mack M, Kuziel WA, Corazza N, Brunner T, Seeger W, Lohmeyer J. Lung epithelial apoptosis in influenza virus pneumonia: the role of macrophage-expressed TNF-related apoptosis-inducing ligand. *J Exp Med.* 2008 Dec 22;205(13):3065-77. doi: 10.1084/jem.20080201. Epub 2008 Dec 8. PMID: 19064696; PMCID: PMC2605231.
12. Zhao J, Zhao J, Perlman S. T cell responses are required for protection from clinical disease and for virus clearance in severe acute respiratory syndrome coronavirus-infected mice. *J Virol.* 2010 Sep;84(18):9318-25. doi: 10.1128/JVI.01049-10. Epub 2010 Jul 7. PMID: 20610717; PMCID: PMC2937604.
13. Page C, Goicochea L, Matthews K, Zhang Y, Klover P, Holtzman MJ, Hennighausen L, Friedman M. Induction of alternatively activated macrophages enhances pathogenesis during severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *J Virol.* 2012 Dec;86(24):13334-49. doi: 10.1128/JVI.01689-12. Epub 2012 Sep 26. PMID: 23015710; PMCID: PMC3503056.
14. Lew TW, Kwek TK, Tai D, Earnest A, Loo S, Singh K, Kwan KM, Chan Y, Yim CF, Bek SL, Kor AC, Yap WS, Chelliah YR, Lai YC, Goh SK. Acute respiratory distress syndrome in critically ill patients with severe acute respiratory syndrome. *JAMA.* 2003 Jul 16;290(3):374-80. doi: 10.1001/jama.290.3.374. PMID: 12865379.
15. an H, Ma Q, Li C, Liu R, Zhao L, Wang W, Zhang P, Liu X, Gao G, Liu F, Jiang Y, Cheng X, Zhu C, Xia Y. Profiling serum cytokines in COVID-19 patients reveals IL-6 and IL-10 are disease severity predictors. *Emerg Microbes Infect.* 2020 Dec;9(1):1123-1130. doi: 10.1080/22221751.2020.1770129. PMID: 32475230; PMCID: PMC7473317.
16. Strona internetowa Ministerstwa Zdrowia, <https://www.gov.pl/web/zdrowie/strategia-walki-z-pandemia-covid19> (dostęp 04.12.2020).

Wykorzystanie badań antygenu wirusa SARS-CoV-2 w czasie przebiegu COVID-19 - doświadczenia własne

Dr n. med. Brygida Beck^[1,2], mgr Anna Żyła^[1], mgr Zuzanna Ofiara^[1], lek.med. Tomasz Skura^[1]

Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, Mazowiecki Szpital Specjalistyczny Sp. z o.o, Radom^[1],

Medyczne Centrum Naukowo-Diagnostyczne BB-Med, Ruda Śląska^[2]

Choroba COVID-19 wywołana jest wirusem SARS-CoV-2, a szybka diagnostyka pacjentów z tą chorobą jest ważna, gdyż pozwala na zmniejszenie rozprzestrzeniania się wirusa. SARS-CoV-2 jest wirusem z rodziny Coronaviridae z rodzaju Betacoronavirus, otoczony jest osłonką i posiada jednoniciowy RNA. Wszystkie koronawirusy wykazują podobieństwo organizacji i ekspresji ich genomu, który koduje 16 białek niestrukturalnych i 4 białka strukturalne: szczytowe (S), otoczki (E), błonowe (M) i nukleokapsydu (N). Wirusy tej rodziny są pochodzenia odzwierzęcego. Powodują choroby o objawach od łagodnego przeziębienia do poważniejszych, takich jak zespół ciężkiej i ostrej niewydolności oddechowej (SARS), bliskowschodni zespół niewydolności oddechowej (MERS) i COVID-19 (ang. Coronavirus Disease-2019).

SARS-CoV-2 przenoszony jest między ludźmi głównie drogą kropelkową. Można go izolować z próbek z górnych dróg oddechowych, uzyskanych za pomocą wymazów z jamy nosowo-gardłowej, gardła lub z płwociny. Wirus uzyskuje dostęp do komórek gospodarza za pośrednictwem enzymu konwertującego angiotensynę 2 (ACE2), który najbardziej rozpowszechniony jest w płucach. Uważa się, że okres inkubacji wirusa wynosi od 2-14 dni po ekspozycji, przy czym większość pacjentów wykazuje objawy około 4-5 dni po ekspozycji.

Aktualnie, zgodnie z obowiązującymi wytycznymi, podstawowymi technikami rozpoznania zakażenia SARS-CoV-2 są: technika RT-PCR oraz test antygenowy.

Badanie RT-PCR a zakaźność

Yafei Zhang i wsp. w publikacji w *Virologica Sinica* podkreśla, że stosowanie do niedawna wyłącznie badań molekularnych prowadziło do wielu błędów w postaci wydawania wyników fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych lub niediagnostycznych czy niejednoznacznych.

RT-PCR jest bowiem badaniem bardzo skomplikowanym, wieloetapowym, z dużą liczbą zmiennych, które przy wielu następujących po sobie etapach, generują możliwość popełnienia błędu (w mniejszym procencie dotyczy to badań zautomatyzowanych). Należy też pamiętać, że samo pobranie materiału jest etapem krytycznym dla poprawności wyniku.

Testy używane w diagnostyce laboratoryjnej powinny pozwalać na wykrywanie/diagnozowanie osób, które są zakażone i które mają zdolność zakażenia innych. Natomiast jak się okazało sam dodatni wynik testu RT-PCR jest niewystarczającym, gdyż osoby, które chorowały i wyzdrowiały z COVID-19 mogą wykazywać niewielką zawartość materiału wirusa w swoich komórkach aż do 3 miesięcy od diagnozy. Oznacza to, że jeżeli osoba, która wyzdrowiała z COVID-19 poddana jest ponownemu testowi w ciągu 3 miesięcy od początkowego zakażenia, może mieć dodatni wynik testu nawet pomimo tego, że nie rozsiewa już choroby. Ozdrowiałe osoby mogą nadal wydalać RNA SARS-CoV-2 wykrywalne w próbkach z górnych dróg oddechowych, chociaż w stężeniach znacząco niższych niż podczas choroby i w zakresach, gdzie w sposób wiarygodny nie uzyskano wirusa zdolnego do replikacji, a zakaźność

jest nieprawdopodobna. Wykrycie wirusowego RNA niekoniecznie oznacza, że osoba jest zakaźna i zdolna do przeniesienia wirusa na inną osobę.

Możemy więc przyjąć, że za wyjątkiem wczesnego stadium zakażenia metody molekularne nie nadają się do wykrywania aktywnego wirusa, zdolnego do replikacji i zakażenia innych osób. RT-PCR wykrywa bowiem materiał genetyczny, ale nie jest w stanie różnicować skąd ten materiał pochodzi: czy jeszcze z wirusa (w trakcie replikacji i zdolnego do zakażenia) czy już z komórek, w które został wbudowany - natomiast wirusa zdolnego do replikacji już dawno nie ma i tym samym pacjent jest niezakaźny. Dodatkowy problem dotyczy pacjentów „bezobjawowych” – przy braku dolegliwości nie wiemy bowiem, kiedy te osoby miały styczność z wirusem, ale wytworzyły odporność. Te osoby mogą również okazać się dodatnie w badaniu RT-PCR.

Musimy więc pamiętać, że dodatni wynik RT-PCR nie jest równoznaczny z aktywnym zakażeniem i ze zdolnością przenoszenia wirusa na inne osoby.

Cykl amplifikacji (Ct) i STT a wynik badania RT-PCR

Bardzo ważną informacją podczas przebiegu badania metodą RT-PCR jest wartość Ct (cycle threshold) – cykl graniczny w reakcjach RT PCR, zwany również cyklem kwantyfikacji – (Cq, quantification cycle), czy cyklem amplifikacji, w którym sygnał fluorescencyjny przecina tzw. próg (threshold) (innymi słowami poziom tła). Mówiąc potocznie: cykl, w którym „pojawia się” reakcja. Im niższa wartość Ct, tym większa zawartość RNA w próbce. Należy jednak pamiętać, że wartość Ct dla tej samej próbki będzie inna zależnie od używanego zestawu odczynnikowego.

B. la Scola i wsp. już w marcu 2020 pisał: „Korelacja pomiędzy udaną izolacją wirusa w hodowli tkankowej a wartością Ct ilościowego RT-PCR skierowanego na gen E sugeruje, że pacjenci z Ct powyżej 33-34 przy użyciu naszego systemu RT-PCR nie są zakaźni i mogą być wypisani ze szpitala lub zwolnieni z restrykcyjnej izolacji dla pacjentów niehospitalizowanych.”

B. Bullard i wsp. w badaniu z maja 2020, wykazał (dodając do rozważań drugi bardzo istotny warunek – czas, który upłynął od momentu wystąpienia objawów – (STT – Symptoms to test)), że

„Zakaźność SARS-CoV-2 na komórkach Vero zaobserwowano jedynie dla RT-PCR Ct<24 i STT<8 dni”.

Niestety w Polsce laboratoria podają jedynie wynik dodatni, bez wartości Ct. Odbiorca wyniku nie wie nawet z jaką orientacyjną wartością cząstek RNA wirusa ma do czynienia. Nie ma też podanej liczby dni, jaka upłynęła od wystąpienia objawów. W sumie na wyniku brakuje zarówno Ct jak i STT.

Jedyną metodą mogącą zweryfikować wyniki RT-PCR jest hodowla wirusowa i to wyniki licznych badań poświęcone hodowli wirusowej w zasadzie przesądziły o zmianie podejścia do diagnostyki SARS-CoV-2. Wyniki różnych badań są dość spójne: w przypadku pacjentów „bezobjawowych” i skąpo objawowych, po 8-9 dniach od wystąpienia objawów, nie daje się wyizolować wirusa SARS-CoV-2 w hodowli czyli pacjenci po tym okresie nie wydawali aktywnego wirusa zdolnego do zakażenia innych osób (przy dodatnim wyniku PCR). Wykazał to m.in. R. Wolfel i wsp.

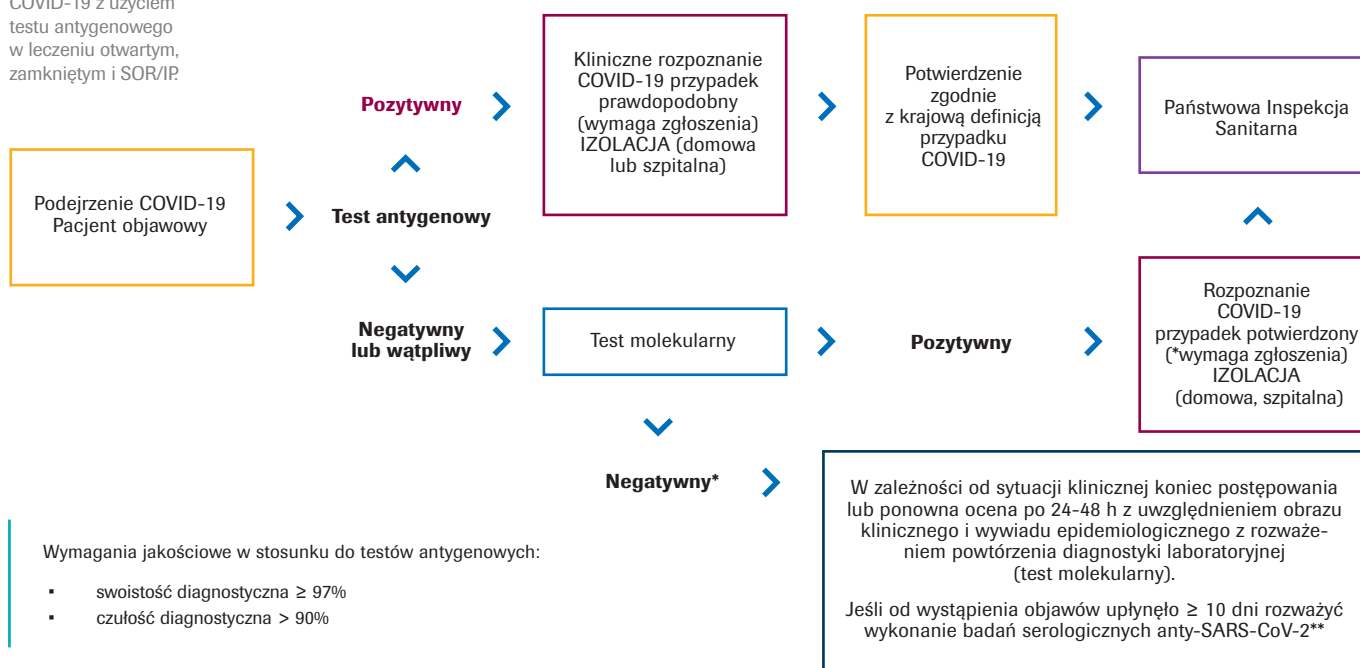
J. van Kampel i wsp. wykazał natomiast, że nawet w przypadku pacjentów z ostrym COVID-19 (a więc hospitalizowanych) okres zakaźności wirusa nie przekraczał 20 dni od dnia wystąpienia objawów, przy czym u większości okres ten był znacznie krótszy (średnio 8 dni).

Rola testów antygenowych

Pojawienie się testów antygenowych w diagnostyce choroby COVID-19 jest więc bardzo dobrym rozwiązaniem. W sierpniu tego roku dopuszczone zostały metody wykrywania wirusa obejmujące te, które wykrywają kwas nukleinowy lub antygen SARS-CoV-2. We wrześniu 2020 pojawiły się odpowiednie wytyczne WHO na ten temat.

Schemat 1.

Algorytm diagnostyki COVID-19 z użyciem testu antygenowego w leczeniu otwartym, zamkniętym i SOR/IP



Możliwość wykrycia antygeny pojawia się 2-3 dni po wykryciu RNA wirusa. Należy pamiętać, że dowiedziona obecność wirusa zdolnego do zakażenia z reguły nie trwa dłużej niż 8-9 dni (za wyjątkiem niektórych ciężkich przypadków choroby, które muszą podlegać hospitalizacji). U niektórych osób, w zależności od odpowiedzi immunologicznej, wirus może zostać wyeliminowany szybciej. Nawet jeżeli przyjmujemy, że czułość testów antygenowych „spada” (wobec wyników RT-PCR) z upływem czasu od zakażenia, to również spada i zanika zdolność wirusa do zakażenia. Wykazały to prace oparte na hodowli wirusowej – po 8-9 dniach od zakażenia nie było możliwości wyhodowania wirusa. Czasami był to krótszy okres, zależny od indywidualnych przypadków m.in. odpowiedzi immunologicznej organizmu pacjenta.

Należy podkreślić, że antygen będzie wykrywalny w krótszym okresie czasu od zakażenia niż samo RNA wirusa w badaniu RT-PCR, w związku z tym, że aktywny wirus jest nieobecny, natomiast wciąż obecne jest jego RNA, a reakcja RT-PCR u takich pacjentów będzie nadal dodatnia.

Test antygenowy SARS-CoV-2 – doświadczenia własne

W Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Mazowieckiego Szpitala Specjalistycznego w Radomiu przebadano 186 próbek wymazów z nosogardzieli pacjentów z objawami COVID-19. Badania wykonano przy pomocy szybkiego testu antygenowego SARS-CoV-2 SD Biosensor/Roche.

Szybki test antygenowy SARS-CoV-2 SD Biosensor/Roche to chromatograficzny test immunologiczny do jakościowego wykrywania specyficznych antygenów SARS-CoV-2 obecnych w nosogardzieli człowieka.

* W przypadku wyniku nierozstrzygującego RT-PCR wykonać badanie kolejnej próbki od pacjenta pobranej po 24h

** Uzupełniające badanie 2 klas przeciwciał, w tym IgG, metodą immunochemiczną lub inną pozwalającą na wykrycie wczesnej odpowiedzi humoralnej anty-SARS-CoV-2, w miarę możliwości porównanie wyniku dwóch próbek od pacjenta pobranych odpowiednio w fazie nasilonych objawów jak i w fazie rekonwalescencji.

Tabela 1.

Wyniki badań wirusa SARS-CoV-2 przy użyciu szybkiego testu antygenowego i reakcji RT-PCR.

Wynik badania Antygen/RT-PCR	Pacjenci (liczba)	Wynik dodatni badań przeciwciał anty-SARS-CoV-2 po ustąpieniu objawów
Dodatni/Dodatni	61	Nie wykonano badań
Ujemny/Dodatni	19	5 na 5 badanych (100%)
Ujemny/Ujemny	58	5 na 5 badanych (100%)
Dodatni/Ujemny	48	4 na 6 badanych (66%)

Uzyskane wyniki naszych badań przedstawia Tabela 1.

Przy analizie uzyskanych wyników należy pamiętać o tym do czego odnosimy wyniki testu antygenowego, a mianowicie do rezultatów RT-PCR, które w przypadku zakażenia będą dodatnie tygodniami. Bardziej odpowiednią metodą odniesienia byłaby hodowla wirusowa, co jednak jest trudne w codziennej pracy laboratoriów. Z drugiej strony wyniki typu: antygen dodatni/RT-PCR ujemny należy rozważyć również pod kątem nieprawidłowo pobranego materiału oraz błędów w badaniach (wyniki fałszywie ujemne) o czym pisze Yafei Zhang i wsp. Badania RT-PCR pacjentów były wykonywane poza Zakładem Diagnostyki Laboratoryjnej Mazowieckiego Szpitala Specjalistycznego w Radomiu.

Analizując dane zawarte w Tabeli 1 możemy zaobserwować, że u 61 objawowych pacjentów (32,8%) otrzymaliśmy jednoznaczne wyniki: antygen dodatni/RT-PCR dodatni. U 19 pacjentów (10,2 %) uzyskany wynik może wskazywać, że pacjenci byli w początkowej fazie choroby, kiedy antygen jest jeszcze niewykrywalny, a RT-PCR jest już dodatni. Wskazują też na to wyniki oznaczeń przeciwciał anty-SARS-CoV-2 jakie uzyskaliśmy u 5 pacjentów po wyzdrowieniu.

W grupie 58 pacjentów (31,2%) otrzymaliśmy wyniki: antygen ujemny/RT-PCR ujemny co wskazuje, że pacjenci chorowali na inne choroby górnych dróg oddechowych niż COVID-19.

Dyskusyjna jest natomiast grupa 48 pacjentów (25,8%), w której otrzymaliśmy wyniki: antygen dodatni/RT-PCR ujemny. U 6 pacjentów z tej grupy wykonaliśmy badania przeciwciał anty-SARS-CoV-2 i w 66% przypadków uzyskaliśmy potwierdzenie obecności przeciwciał. U 2 pacjentów wynik był ujemny - nie mieliśmy jednak możliwości wykonania tego badania w późniejszym czasie, a jak wiemy każdy układ immunologiczny reaguje w inny sposób na wniknięcie do organizmu obcego antygeny - niewykluczone, że później te przeciwciała pojawiły się u pacjentów. Najbardziej prawdopodobną przyczyną otrzymania takich wyników jest błąd w pobieraniu materiału lub w procesie przeprowadzania reakcji RT-PCR.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że szybki test antygenowy jest ważnym narzędziem diagnostycznym w diagnostyce COVID-19. Zgodnie ze schematem podanym w Stanowisku Zespołu do spraw koordynacji sieci laboratoriów COVID w sprawie możliwości wykorzystania testów wykrywających antygen SARS-CoV-2 w diagnostyce COVID-19 w Polsce z dnia 3.11.2020, „Algorytm diagnostyki COVID-19 z użyciem testu antygenowego w lecznictwie otwartym, zamkniętym i SOR/IP” - (Schemat 1) szybki test antygenowy wraz z badaniami RT-PCR pozwala na jednoznaczną diagnozę u pacjenta.

Piśmiennictwo

1. Webinarium nr 27 Pandemia COVID-19 aktualna sytuacja, nowe rozporządzenia izolacja i kwarantanna https://www.youtube.com/watch?v=fGvLt__QbIA
2. Yafei Zhang i wsp.: Discrimination of False Negative Results in RT-PCR Detection of SARS-CoV-2 RNAs in Clinical Specimens by Using an Internal Reference, *Virologica Sinica*, <https://doi.org/10.1007/s12250-020-00273-8>
3. CDC. Duration of Isolation and Precautions for Adults with COVID-19. Updated Aug. 16, 2020 <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/duration-isolation.html>
4. WHO. Criteria for releasing COVID-19 patients from isolation (17 June 2020) <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/criteria-for-releasing-covid-19-patients-from-isolation>
5. Bernard La Scola et al. Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* (2020) 39:1059–1061
6. Bullard J, Durst K, Funk D, Strong JE, Alexander D, Garnett L et al. Predicting Infectious SARS-CoV-2 From Diagnostic Samples. *Clin Infect Dis* 2020 May 22. doi: 10.1093/cid/cia638
7. Wolfel R, Corman VM, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-19. *Nature*. 2020; 581: 465-69.
8. van Kampen J, van de Vijver D, Fraaij P, Haagmans B, Lamers M, Okba N, et al. Shedding of infectious virus in hospitalized patients with coronavirus disease-2019 (COVID-19): duration and key determinants. (Preprint) *Medrxiv*. 2020. Available at: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.06.08.20125310v1external-icon> doi: <https://doi.org/10.1101/2020.06.08.20125310>
9. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/testing-overview.html>
10. <https://www.who.int/publications/i/item/antigen-detection-in-the-diagnosis-of-sars-cov-2-infection-using-rapid-immunoassays>
11. Wykrywanie przypadków z aktywnym i zakaźnym SARS-CoV-2. Miejsce i rola testów antygenowych w diagnostyce laboratoryjnej Marek Domaradzki, Borpol, Webinar - 17 września 2020r.
12. Gannon CK Mak i wsp.: Analytical sensitivity and clinical sensitivity of the three rapid antigen detection kits for detection of SARS-CoV-2 virus, *Journal of Clinical Virology* 133 (2020) 104684

Od zmierzchu do świtu – witamina D

*dr hab. n. med. Paweł Płudowski, Zakład Biochemii, Radioimmunologii i Medycyny Doświadczalnej,
Instytut „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa*

Od roku 2013, a więc od publikacji wytycznych suplementacji witaminy D dla populacji Europy Środkowej notuje się stały wzrost zainteresowania tą witaminą, najpewniej ze względu na liczne publikacje, które wskazały witaminę D jako znaczącą dla zdrowia człowieka. Rosnące zainteresowanie zaowocowało znacznym zwiększeniem liczby wykonywanych oznaczeń stężenia 25-hydroksywitaminy D – podstawowego markera zaopatrzenia w witaminę D. Podobnie liczba nowych suplementów dostępnych w aptekach również wzrosła. Co ciekawe, rynek produktów dostępnych na receptę także stale się rozwija. Wydaje się zatem, że witamina D i cały rynek z nią związany przeżywają czas prosperity.

Warto jednak zauważyć, że ostatnio nad witaminą D zbierają się czarne chmury, w renomowanych czasopismach medycznych opublikowano wyniki badań podważające znaczenie tej witaminy dla zdrowia człowieka. Badania z randomizacją takie jak VITAL, VIDA lub D2D nie udokumentowały w sposób jednoznaczny korzyści wynikających z podaży witaminy D w profilaktyce wybranych chorób. W efekcie, w ogólnodostępnej przestrzeni medialnej witamina D przestała być prezentowana jako panaceum, a grona naukowe sceptycznie do niej nastawione ogłosiły zbliżający się jej upadek. Z drugiej strony, wyniki innych badań publikowanych również w renomowanych czasopismach medycznych wciąż dokumentują wiele korzyści wynikających z działania witaminy D na organizm ludzki na wszystkich etapach jego życia. Mimo wzajemnie wykluczających się konkluzji, obniżone zasoby ustrojowe witaminy D wciąż postrzega się, jako ważny dodatkowy czynnik ryzyka wielu chorób i ich powikłań, zaś udokumentowane korzyści zdrowotne związane ze stosowaniem witaminy D stały się podstawą do opracowania i opublikowania w 2018 roku zaktualizowanych Polskich Zaleceń dotyczących profilaktyki niedoborów witaminy D^[1].

Najszerzej dotychczas komentowanym zarówno przez media jak i grona eksperckie badaniem z randomizacją, które nie udokumentowało korzyści związanych z witaminą D jest badanie Manson JE i wsp. opublikowane co prawda ponad rok temu, ale wciąż stymulujące dyskusję^[2]. W świetle dostępnych danych suplementacja witaminy D z jednej strony wydaje się korzystnie wpływać na układ renina-angiotensyna-aldosteron (RAAS), łagodzi zapalenie o niskim nasileniu, łagodzi insulinooporność tkanek, obniża ciśnienie tętnicze, itp., a więc redukuje wiele istotnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego, mimo to, przeprowadzone badania RCT nie dostarczyły jednoznacznych rezultatów wskazujących na konieczność uwzględnienia witaminy D w menu działań profilaktycznych ograniczających ryzyko tych chorób. W badaniu VITAL dokonano próby określenia znaczenia suplementacji witaminą D3 w dawce 2000 IU dziennie w zapobieganiu nowotworom i chorobom układu krążenia u mężczyzn w wieku 50 lat lub starszych oraz kobiet w wieku 55 lat lub starszych w Stanach Zjednoczonych. Badanie RCT prowadzono przez 5 lat. Pierwszorzędownymi punktami końcowymi były inwazyjny rak dowolnego typu i poważne zdarzenia sercowo-naczyniowe (zawał mięśnia sercowego, udar lub zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych). Wtórne punkty końcowe obejmowały nowotwory specyficzne dla miejsca, śmierć z powodu raka i dodatkowe zdarzenia sercowo-naczyniowe. Łącznie randomizowano 25 871 uczestników, w tym 5106 Afroamerykanów. Suplementacja witaminą D nie wiązała się z niższym ryzykiem wystąpienia głównych punktów końcowych. Podczas mediany okresu obserwacji wynoszącej 5.3 roku nowotwór rozpoznano u 1617 uczestników (793 w grupie

witaminy D i 824 w grupie placebo; współczynnik ryzyka, 0.96; 95% przedział ufności [CI]: 0.88-1.06; P = 0.47). Poważne zdarzenie sercowo-naczyniowe wystąpiło u 805 uczestników (396 w grupie witaminy D i 409 w grupie placebo; współczynnik ryzyka 0.97; 95% CI: 0.85-1.12; P = 0.69). Współczynniki ryzyka (HR) wystąpienia drugorzędowych punktów końcowych wyniosły odpowiednio: dla śmierci z powodu raka (341 zgonów) HR = 0.83 (95% CI: 0.67-1.02); dla raka piersi HR = 1.02 (95% CI: 0.79-1.31); dla raka prostaty HR = 0.88 (95% CI: 0.72-1.07); w przypadku raka jelita grubego HR = 1.09 (95% CI: 0.73-1.62); dla rozszerzonego złożonego punktu końcowego dużych zdarzeń sercowo-naczyniowych z uwzględnieniem rewaskularyzacji wieńcowej HR = 0.96 (95% CI: 0.86-1.08); dla zawału mięśnia sercowego HR = 0.96 (95% CI: 0.78-1.19); dla udaru HR = 0.95 (95% CI: 0.76-1.20); dla śmierci z przyczyn sercowo-naczyniowych HR = 1.11 (95% CI: 0.88-1.40). W analizie śmierci z jakiegokolwiek przyczyny (978 zgonów) współczynnik ryzyka HR wyniósł 0.99 (95% CI: 0.87-1.12). Na podstawie powyższych wyników stwierdzono, że suplementacja witaminą D przez 5 lat w dawce 2000 IU dziennie nie wiązała się w sposób istotny statystycznie z niższym ryzykiem wystąpienia głównych punktów końcowych. Ponadto stwierdzono, że suplementacja witaminą D3 nie powodowała mniejszej częstości występowania inwazyjnych nowotworów lub zdarzeń sercowo-naczyniowych niż placebo, dlatego nie ma zastosowania w profilaktyce nowotworów i chorób układu krążenia. Kropka.

Wyniki badania VITAL opublikowano w jednym z najbardziej poczytnych, opiniotwórczych i prestiżowych czasopism medycznych na świecie – The New England Journal of Medicine – w wersji drukowanej w styczniu 2019 r^[2]. Zgodnie z oczekiwaniami, główne wnioski badania szybko znalazły swoje miejsce jako „news” wielu internetowych portali medycznych na całym świecie, z głównym przekazem – „witamina D nie chroni przed rakiem i chorobami układu krążenia”. Warto jednak zaznaczyć, że mimo opisanego wyżej (wartościami współczynników ryzyka) braku korzystnych efektów w zakresie redukcji ryzyka nowotworów lub chorób układu krążenia, badanie VITAL nie jest badaniem negatywnym dla witaminy D, zwłaszcza w kontekście jej potencjalnego działania przeciwnowotworowego. Badanie VITAL należy rozważyć w aspekcie dostarczenia cennych danych w zakresie prewencji pierwotnej nowotworów i chorób układu krążenia. Chociaż pierwszorzędowne punkty końcowe badania VITAL nie zostały spełnione, inne wyniki tego badania są godne uwagi. Analiza z wyłączeniem pierwszych 2 lat obserwacji (z uwzględnieniem okresu utajenia raka) ujawniła istotne – bo 25% obniżenie ryzyka zgonu związanego z rakiem w grupie poddanej działaniu witaminy D w porównaniu z grupą placebo; współczynnik ryzyka (HR) wyniósł 0.75 (95% CI: 0.59-0.96). Dalej, ryzyko śmierci z powodu raka było niższe również po wyłączeniu pierwszego

roku obserwacji; HR = 0.79; 95% CI: 0.59-0.96). Co więcej, analizy w podgrupach wykazały możliwość zróżnicowanego wpływu suplementacji witaminy D na zachorowalność na raka, zależnie od indeksu masy ciała (BMI), z bardzo ciekawą obserwacją dodatkową. Okazało się bowiem, że osoby o prawidłowej masie ciała, z BMI <25 kg/m², w grupie suplementowanej witaminą D w dawce 2000 IU dziennie wykazywały istotnie niższą zapadalność na raka (o 24%) w porównaniu z osobami z grupy placebo (HR = 0.76; 95% CI: 0.63-0.90). Z drugiej strony suplementacja witaminy D w dawce 2000 IU/d nie spowodowała podobnych korzyści zdrowotnych u uczestników z nadwagą i otyłością - najpewniej ze względu na wyższe zapotrzebowanie na witaminę D u takich osób wynikające z rozcieńczenia objętościowego związanego z otyłością. Rzeczywiście, zgodnie z wytycznymi suplementacji i leczenia niedoboru witaminy D w Polsce i Europie Środkowej a także z wytycznymi Towarzystwa Endokrynologicznego (USA), otyłe osoby dorosłe wymagają zastosowania przynajmniej dwukrotnie wyższych dawek witaminy D w porównaniu do rówieśników o prawidłowej masie ciała, zarówno w leczeniu jak i zapobieganiu nawracającemu niedoborowi witaminy D.

Wyniki ogólne badania VITAL i tak mocne wnioski końcowe mogą przynajmniej częściowo odzwierciedlać niektóre ograniczenia metodologiczne tej próby, pomimo jej niezaprzeczalnych mocnych stron (duża liczebność grupy badanej; heterogeniczność rasowa, etniczna i geograficzna uczestników; wysoki wskaźnik osób, które ukończyły badanie oraz wysoki wskaźnik przestrzegania przez uczestników określonych reguł tego badania). Zwyczajowo, sami autorzy stwierdzili, że badanie miało ograniczenia, w tym czas trwania obserwacji (5.3 roku) i stosowanie tylko jednej dawki witaminy D (2000 IU/d). W przypadku dawki 2000 IU/d nie trudno jest sobie wyobrazić problemy formalne grupy badawczej już na etapie pozyskiwania zgody komisji bioetycznej na ekspozycję dużej grupy ludzi na tak „dużą” dawkę dobową przez okrągłe 5 lat. Udało się, co należy raczej traktować jako sukces liderów badania, choć dodanie innych schematów

suplementacji witaminą D z pewnością znacząco wzmocniłoby wartość poznawczą tego badania. Jednym z podstawowych i wymagających podkreślenia ograniczeń badania VITAL jest fakt, że osoby włączone do tej próby były prawidłowo zaopatrzone w witaminę D. Średnie stężenie 25(OH)D na początku badania wyniosło 30.8 ng/ml, niedobór witaminy D ujawniono jedynie u ok. 13% uczestników. Dodatkowo, wartości stężeń 25(OH)D na początku badania oznaczono jedynie u 15 787 uczestników, co odpowiada około 61% wszystkich uczestników. Nie wiadomo zatem, jaki był średni wyjściowy status zaopatrzenia w witaminę D u wszystkich badanych, trudno również przewidzieć jaki wpływ na pierwszorzędowe i drugorzędowe punkty końcowe miał fakt, że większość uczestników była już na początku badania prawidłowo zaopatrzona w witaminę D. Co ważne, wszystkim uczestnikom - w tym również grupie placebo - ze względów etycznych zezwolono na dodatkową podaż witaminy D w dawce do 800 IU/d z różnych dodatkowych źródeł. Biorąc powyższe pod uwagę, trzymając się ścisłych reguł, można pokusić się o stwierdzenie, że projekt badania VITAL nie spełnił w całości kryteriów badania RCT, bowiem możliwość dodatkowej podaży 800 IU witaminy D (co stanowi około 40% badanej dawki 2000 IU) dziennie zarówno w grupie poddanej interwencji jak i w grupie placebo jest niezgodna z regułami i mogła przynajmniej częściowo wpłynąć na odnotowane wyniki badania. Co więcej, w piątym roku próby VITAL u 6.4% osób poddanych interwencji oraz u ok. 11% uczestników w grupie placebo ujawniono dodatkową podaż witaminy D w dawkach przekraczających 800 IU dziennie! Brak informacji ankietowych na temat ekspozycji uczestników na słońce (i stosowania filtrów przeciwsłonecznych), brak danych dotyczących aktywności fizycznej na świeżym powietrzu, aktywności w pomieszczeniach i nawyków żywieniowych to kolejne ograniczenia badania VITAL. Takie informacje, będące przecież czynnikami ryzyka pierwszorzędowych i drugorzędowych punktów końcowych, mogłyby ujawnić potencjalne różnice między grupą placebo a grupą suplementowaną witaminą D.



Głównym ograniczeniem badania VITAL jest brak oceny zmian stężenia 25(OH)D w trakcie trwania badania, z wyjątkiem podgrupy 1644 osób z 25 871 uczestników (6,35% wszystkich uczestników), u których stężenie 25(OH)D zmierzono po 1 roku. W tej nielicznej podgrupie stężenie 25(OH)D wzrosło z 29.8 ng/ml na początku badania do 41.8 ng/ml w 1 roku (wzrost o 40% w grupie przyjmującej witaminę D), przy minimalnych zmianach obserwowanych w grupie placebo (średnio: -0.7 ng/ml). Wyniki te nie uprawniają do uogólnień dla pozostałych 94% uczestników. Wiadomo, że odpowiedź na daną dawkę witaminy D mierzona zmianą stężenia 25(OH)D jest wysoce zmienna i zależy od kilku czynników, w tym wyjściowego stężenia 25(OH)D, zawartości tkanki tłuszczowej, stosowanych leków, osobniczych uwarunkowań genetycznych, zmian sezonowych itp.

Odpowiednie zaprojektowanie, przeprowadzenie i analiza badań z randomizacją (RCT) mają kluczowe znaczenie dla uzyskania wiarygodnych wyników dotyczących wpływu suplementacji witaminy D w różnych warunkach klinicznych. W przypadku witaminy D kluczowe wydaje się uwzględnienie w badaniu RCT zarówno schematu podaży i dawki jak również stężenia 25(OH)D

i jego zmian pod wpływem interwencji. Bezspornie, badanie VITAL stanowi silny głos w dyskusji nad znaczeniem witaminy D w prewencji chorób nowotworowych i chorób układu krążenia. Bezspornie przyszłe RCT powinny bezwzględnie obejmować analizę stężenia wyjściowego i badania kontrolne 25(OH)D, zaś próba RCT ograniczona jedynie do oceny danej dawki witaminy D nie może być traktowana jako definitywny wskaźnik wpływu tej witaminy D na kliniczne punkty końcowe.

Na zakończenie warto zaznaczyć, że w badaniu VITAL nie stwierdzono zwiększonego ryzyka hiperkalcemii lub innych działań niepożądanych, co również stanowi cenną obserwację dotyczącą bezpieczeństwa podaży witaminy D w dawce (co najmniej) 2000 IU/d.

Zgodnie z rekomendacjami „Wytyczne suplementacji witaminą D dla Europy Środkowej – rekomendowane dawki witaminy D dla populacji zdrowej oraz dla grup ryzyka deficytu witaminy D”^[3] należy dążyć do uzyskania następujących stężeń witaminy D u dzieci i u dorosłych:

Tabela 1.

Ocena stanu zaopatrzenia organizmu w witaminę D na podstawie stężenia 25(OH)D w surowicy dla wszystkich grup wiekowych.

	Stężenie 25(OH)D		Postępowanie
	nmol/l	ng/ml	
Deficyt	0–50	0–20	Terapia deficytu
Stężenie suboptymalne	>50–75	>20–30	Zwiększenie / utrzymanie suplementacji witaminą D
Stężenie optymalne	>75–125	>30–50	Utrzymanie suplementacji witaminą D
Stężenie wysokie	>125–250	>50–100	Utrzymanie / obniżenie dawek suplementacji witaminą D
Stężenie potencjalnie toksyczne	>250	>100	Powstrzymanie się od przyjmowania witaminy D do momentu uzyskania stężenia 25(OH)D w zakresie optymalnym
Poziom toksyczny	>500	>200	Leczenie potencjalnych efektów toksycznych

Piśmiennictwo

1. Rusińska, Pludowski P, Walczak M, Borszewska-Kornacka MK, Bossowski A, Chlebna-Sokół D, Czech-Kowalska J, Dobrzańska A, Franek E, Helwich E, Jackowska T, Kalina M, Konstantynowicz J, Książyk J, Lewiński A, Łukaszewicz J, Marcinowska-Suchowierska E, Mazur A, Michałus I, Peregud-Pogorzelski J, Romanowska H, Ruchala M, Socha P, Szalecki M, Wielgoś M, Zwolińska D, Zygmunt A. Zasady Suplementacji I Leczenia Witaminą D– Nowelizacja 2018 R. POSTĘPY NEONATOLOGII 2018;24: 1-24
2. Manson JE, Cook NR, Lee IM, Christen W, Bassuk SS, Mora S, Gibson H, Gordon D, Copeland T, D'Agostino D, Friedenberg G, Ridge C, Bubes V, Giovannucci EL, Willett WC, Buring JE; VITAL Research Group. Vitamin D Supplements and Prevention of Cancer and Cardiovascular Disease. *N Engl J Med.* 2019;380:33-44
3. Pludowski P, Karczmarewicz E, Bayer M, Carter G, Chlebna-Sokół D, Czech-Kowalska J, Dębski R, Decsi T, Dobrzańska A, Franek E, Glusko P, Grant WB, Holick MF, Yankovskaya L, Konstantynowicz J, Książyk JB, Książkowska-Orłowska K, Lewiński A, Litwin M, Lohner S, Lorenc RS, Łukaszewicz J, Marcinowska-Suchowierska E, Milewicz A, Misiorowski W, Nowicki M, Povoroznyuk V, Rozentryt P, Rudenka E, Shoenfeld Y, Socha P, Solnica B, Szalecki M, Talaaj M, Varbiro S, Żmijewski MA. Practical guidelines for the supplementation of vitamin D and the treatment of deficits in Central Europe - recommended vitamin D intakes in the general population and groups at risk of vitamin D deficiency. *Endokrynol Pol.* 2013;64:319-27

Rozmowa z ustępującym Dyrektorem Generalnym Roche Diagnostics w Polsce - Ralfem Halbachem.

1. Czy może nam Pan krótko opowiedzieć o swojej ścieżce zawodowej?

Ukończyłem chemię organiczną na uniwersytecie w Szwajcarii. Tam też poznałem moją żonę, która jest Szwajcarką. Ukończyłem studia MBA, po których rozpocząłem pracę w sektorze farmaceutycznym. Pracowałem w Hiszpanii, USA, Maroku i w Singapurze, skąd przyjechałem z żoną i trójką dzieci do Polski, by podjąć pracę w Roche Diagnostics.

2. Od czego rozpoczęło się Pana zainteresowanie diagnostyką medyczną?

Otrzymałem propozycję pracy dla Roche Diagnostics w Warszawie i przyjąłem ją z ogromną przyjemnością. Praca na rzecz pacjentów, mająca realne przełożenie na ich życie i zdrowie jest czymś niezwykłym. Ostatnie 3 lata były dla mnie wyjątkowym doświadczeniem, a zarazem dały mi ogromne możliwości rozwoju. Doceniam pracę w Polsce również przez wzgląd na możliwość odkrywania zupełnie nowego, nieznanego mi do tej pory regionu Europy Środkowo-Wschodniej.

3. Pracował Pan już wcześniej w kilku krajach, czy są jakieś istotne różnice w zarządzaniu zespołami?

Każdy z nas, niezależnie od miejsca zamieszkania czy narodowości, chciałby być po prostu traktowany należycie, z szacunkiem, mieć zaufanie do pracodawcy. Oczywiście są pewne różnice wynikające zapewne z historii danego kraju, czy jego położenia, ale

nie są one znaczące. Polacy podchodzą do swojej pracy z dużym zaangażowaniem, jednocześnie szukając złotego środka, który umożliwiałby im harmonijne łączenie aktywności zawodowych z życiem prywatnym.

4. Jakie były największe wyzwania, a jakie korzyści związane z pracą w Polsce?

Największą niedogodnością - co w największej mierze wynikało z mojej winy - był brak znajomości języka polskiego. Próbowałem uczyć się polskiego, który zresztą był pierwszym językiem słownym z jakim miałem do czynienia, ale jest on niezwykle trudny. To, co zrobiło na mnie ogromne wrażenie w Polsce, to wyjątkowa uprzejmość i kultura Polaków. Jesteście przedsiębiorczy, bardzo pracowici i zmotywowani do zdobywania nowych kompetencji. Doskonale wpisuje się to w potrzeby polskiej gospodarki, która świetnie się rozwija, stwarzając tym samym ogromne możliwości.

5. Jakie projekty zrealizowane w Roche Diagnostics były z Pana punktu widzenia najistotniejsze?

Dla mnie na pierwszym miejscu są zawsze ludzie, którzy tworzą daną organizację, wyznaczają cele i do nich dążą. Jestem szczególnie dumny z działań, które podjąłem w celu zniwelowania barier istniejących pomiędzy poszczególnymi departamentami. Poczucie wspólnej misji bardzo integruje ludzi i sprawia, że wysiłki podejmowane w pracy zbliżają nas do siebie. Wszyscy w Roche Diagnostics pracujemy na rzecz pacjentów i ich jakości życia - to nadrzędny cel, który nam przyświeca.



6. Jakie działania należy Pana zdaniem podjąć, by przyspieszyć wdrożenie medycyny personalizowanej w Polsce?

Medycyna personalizowana jest niezwykle ważna, ale trzeba pamiętać, że jest to jednocześnie bardzo złożony temat. Naszym zadaniem, jako firmy Roche, jest ścisła współpraca naszych dywizji – diagnostycznej i farmaceutycznej – na rzecz jej rozwoju. Poza pracą wewnątrz naszej organizacji konieczne jest poszukiwanie wspólnie z interesariuszami, takimi jak chociażby towarzystwa naukowe czy przedstawiciele władz, rozwiązań pozwalających na implementację medycyny personalizowanej w Polsce. Jestem głęboko przekonany, że jej wdrożenie do polskiego systemu ochrony zdrowia będzie milowym krokiem w udoskonalaniu opieki medycznej, co z kolei będzie wiązało się z ogromnymi korzyściami dla pacjentów.

7. Jak wyglądała praca w Roche Diagnostics w czasie pandemii COVID-19?

Pracując w Roche Diagnostics mamy ten przywilej, że możemy pomagać pacjentom, oferując im rozwiązania umożliwiające skuteczne zwalczanie SARS-CoV-2. Wielu z naszych pracowników było odpowiedzialnych za instalowanie oraz serwis techniczny sprzętu firmy Roche w laboratoriach, które musiały jeszcze bardziej zwiększyć swoją wydajność w czasie pandemii. Ośmielę się nazwać ich pracownikami pierwszej linii frontu, którzy dzięki swojemu zaangażowaniu umożliwili ciągłość świadczenia usług laboratoryjnych. Utrzymanie ich w zdrowiu było i nadal jest naszym priorytetem. Nie sposób też nie wspomnieć o pozostałych pracownikach, którzy nagle z dnia na dzień musieli rozpocząć pracę zdalną ze swoich domów. Pragnę podkreślić, że jestem bardzo dumny ze wszystkich naszych zespołów pracowniczych, ponieważ dzięki nim, niezależnie od sytuacji, mogliśmy zapewnić pomoc pacjentom w całej Polsce.



Ralf Halbach

Dyrektor Generalny Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.

8. Kim jest Pana następcą? Jakich rad chciałby mu Pan udzielić?

To Dirkjan Paans, jest Holendrem i rozpoczął pracę w Roche Diagnostics w Polsce na początku grudnia. Ma ogromne doświadczenie zawodowe, wcześniej pracował w oddziałach Roche w Belgii, Szwajcarii i na Filipinach. Jeśli chodzi o radę dla mojego następcy, jest ona wyjątkowo prosta – czerp satysfakcję z pracy w Roche Diagnostics w Warszawie. Praca w polskim oddziale jest przyjemnością, a to za sprawą znakomitego i otwartego zespołu kompetentnych pracowników.

9. Jaka jest Pana zdaniem przyszłość medycyny laboratoryjnej w Polsce?

Przed medycyną laboratoryjną w Polsce stoją ogromne możliwości. Moim zdaniem kluczową kwestią będą efektywność i czas oczekiwania na wyniki. Ponadto, wspólnie z Polskim Towarzystwem Diagnostyki Laboratoryjnej winniśmy kontynuować działania na rzecz wspierania pacjentów w zakresie proaktywnego wykonywania testów i badań profilaktycznych.

10. Co najbardziej podobało się Panu w Polsce?

Miałem sposobność odwiedzenia wielu pięknych miejsc w Polsce i trudno byłoby mi wskazać to najbardziej wyjątkowe. Jestem pod wrażeniem polskich miast, takich jak chociażby Gdańsk czy Kraków, ale też tych mniejszych miejscowości, jak np. Zamość, Malbork czy Toruń. Polska ma bardzo dużo terenów zielonych, np. obszary białowieżańskie, gdzie miałem okazję po raz pierwszy w życiu zobaczyć żubry. Bardzo polubiłem też polską kuchnię. Na koniec chciałbym tylko dodać, że Polska jest bardzo bezpiecznym krajem, który pozwolił mi i mojej rodzinie poczuć się tu jak w domu. Praca tutaj, w Warszawie była dla mnie przywilejem.

Współpraca Działu Serwisów Profesjonalnych oraz RCSC - wsparcie klientów w czasie pandemii COVID-19

Karol Sowiński, Service Excellence Manager, Roche Diagnostics

Rok 2020 zapisał się na kartach historii jako rok bezprecedensowy. W wyniku pierwszego zakażenia koronawirusem, które miało miejsce 4 marca w Zielonej Górze i późniejszego wzrostu liczby zakażeń w całej Polsce, w okresie od 14 do 20 marca wprowadzono w naszym kraju stan zagrożenia epidemicznego, a z dniem 20 marca decyzją Ministra Zdrowia stan epidemii. Wtedy niewielu z nas miało świadomość, że życie jakie znamy, prowadzimy, pamiętamy zmieni się diametralnie.

Zamknięto szkoły i przedszkola, ograniczono ofertę gastronomiczną, sportową i kulturalną, wprowadzono specjalne obostrzenia w przestrzeni publicznej. Promowano proste hasła dotyczące zachowania bezpieczeństwa: maski, dystans, dezynfekcja.

Większość osób świadczących pracę na rzecz prywatnych przedsiębiorstw i korporacji została poproszona o pracę zdalną, wykonywaną z domu.

Zmieniająca się rzeczywistość wymusiła na społeczeństwie nowe standardy komunikacji. Większość aktywności zaczęliśmy realizować zdalnie - spotkania szkolenia, przeróżne kursy, nawet wizyty u lekarza.

Dla większości osób zmiany te oznaczały ograniczenia w poruszaniu się, spędzanie mnóstwa czasu w domu, wymóg stosowania środków ochrony osobistej w przestrzeni publicznej, konieczność rezygnacji z ulubionych rozrywek, takich jak kino czy spotkania z przyjaciółmi.



Również dla firmy Roche Diagnostics rzeczywistość zmieniła się nie do poznania. Znaczna część Pracowników dostosowała się do wymogu pracy zdalnej, zawieszono spotkania i wyjazdy służbowe.

Wśród Pracowników została jednak spora grupa osób, która nie mogła pozostać w domach i wykonywać swojej pracy w sposób zdalny.

Tą grupą są **zespoły wsparcia Klienta**.

W celu zapewnienia ciągłości pracy w medycznych laboratoriach diagnostycznych w czasach pandemii inżynierowie oraz specjaliści aplikacyjni z Działu Serwisów Profesjonalnych wspólnie z Regionalnym Centrum Wsparcia Klienta (RCSC) z największym poświęceniem i oddaniem na bieżąco realizują naprawy/instalacje/przeglądy aparatury medycznej, oferowanej naszym Klientom.

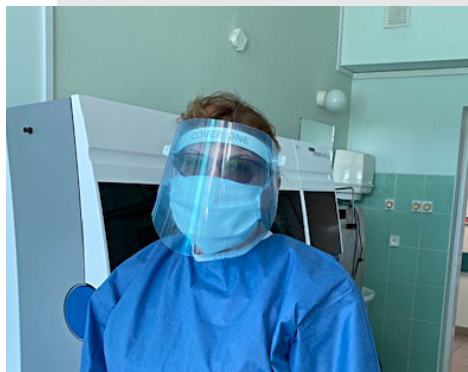
Wielu z Państwa zastanawia się pewnie, jakie myśli towarzyszą owym pracownikom, którzy wstają co rano do pracy, nie wiedząc co przyniesie nowy dzień, w jakim szpitalu/ośrodku przyjdzie im zmagać się nie tylko z kapryсами technologii, ale przede wszystkim z ryzykiem zakażenia SARS-CoV-2.

Pozwólcie Państwo zatem, że przybliżę Wam, choć w niewielkim stopniu, jak wygląda nasza codzienna praca i jak radzimy sobie z tym wyzwaniem.

Co się zmieniło w czasie pandemii COVID-19?

Nowa sytuacja, nowe wyzwania, nowe ubranie robocze i procedury. Przy odrobinie szczęścia przez zaparowane okulary też da się dostrzec rozwiązanie problemu. Tylko nie mogę pojąć, dlaczego nikt nie przyjdzie i nie zaproponuje mi kawy, gdy pracuję w pracowni Covid :).

Rafał Witczak, Service & Application Specialist



Codziennie życie specjalisty aplikacyjnego w pandemii zmieniło się. Może jest bardziej uciążliwe, ale czy to zmiana na gorsze? Zależy od nastawienia. *Always look on the bright side of life* – jeżeli tak podchodzisz do życia, to można dostrzec w tym wszystkim również jakieś dobre strony. W laboratoriach ryzyko zakażenia jest zdecydowanie niższe niż np. w supermarkecie. Ponadto przebywając na co dzień w laboratoriach ciągle stykamy się z różnymi czynnikami chorobotwórczymi. A jak do tego dołączymy odpowiednie zabezpieczenia i zadamy o swoją kondycję zdrowotną, to jestem pewna, że przetrwamy nawet gdy zdarzy nam się zakażenie.

Alicja Jasińska, Senior Application & Training Specialist

Regionalne Centrum Wsparcia Klienta (RCSC) w Warszawie, którego głównym zadaniem jest zapewnienie zdalnej (telefonicznej, mailowej etc.) obsługi zgłoszeń Klientów w 7 krajach, oprócz wspierania Klientów w pracy na już zainstalowanych analizatorach, chętnie bierze udział w projektach zagranicznych. Czas pandemii nie przeszkodził w zapewnieniu tego rodzaju pomocy, czego efektem było udzielenie wsparcia aplikacyjnego przez Karolinę Stasiak-Tomiałojć oraz Ryszarda Tomiałowicza podczas dwóch instalacji:

- pierwszego systemu **cobas pro** integrated solutions na Łotwie w głównym laboratorium sieci Centrala Laboratorija w Rydze (29-31.07.2020 r.);
- pierwszego systemu **cobas pro** integrated solutions – z dwóch zaplanowanych w ramach kompleksowego projektu reorganizacji laboratorium, należącego do grupy AGEL w Zvoleniu na Słowacji (02-04.09.2020 r.).

Każda z instalacji to trzy dni intensywnej pracy, obejmującej m.in. konfigurację analizatora, instalację aplikacji, szkolenie personelu z podstawowej i bardziej zaawansowanej obsługi analizatora oraz szkolenie kolegów z lokalnego zespołu Specjalistów Aplikacyjnych.

Instalowano analizatory w pełnej konfiguracji **cobas pro** <c503, ISE, e801> ze zróżnicowanym portfolio testów oraz ustawieniami dostosowanym do potrzeb Klientów.

Ważną kwestią był język komunikacji używany podczas bezpośredniej współpracy z Klientem i prowadzenia szkolenia (głównie język rosyjski [Ryga] i angielski [Słowacja], jednak kwestie lingwistyczne nie stanowiły bariery, a wręcz były źródłem miłego zaskoczenia, gdy nieoczekiwanie można było porozmawiać po polsku).

Planowanie i realizacja tego typu projektów przy niepewnej sy-



Karolina Stasiak-Tomiałojć, Product Specialist

tuacji epidemicznej wymagały śledzenia (czasami dynamicznie zmieniających się) aktualnie obowiązujących obostrzeń rządowych po obu stronach granicy oraz dostosowania się do wewnętrznych rozporządzeń szpitala czy laboratorium. Jednak terminy wyjazdów i charakter placówek pozwoliły z wyprzedzeniem przygotować się do pracy i zabezpieczyć w środki ochrony indywidualnej. W przypadku wizyty na Słowacji restrykcje obejmowały jedynie obowiązkowe noszenie masek ochronnych przez cały czas pobytu w laboratorium oraz wykonanie testów molekularnych RT-PCR w kierunku COVID-19 dla osób przyjeżdżających z Polski.

Pomimo pewnych niedogodności związanych z pandemią udział w tego rodzaju inicjatywach stanowi bardzo dobrą okazję do budowania owocnej współpracy z użytkownikami i przedstawicielami lokalnej organizacji, zapoznania się z systemem pracy laboratoriów oraz rozwiązaniami stosowanymi w innych krajach, jak również do zdobycia nowych, cennych doświadczeń.



Pakowanie przesyłek dla naszych specjalistów było nie lada wyzwaniem! Wyszukanie i zamówienie odpowiednich środków ochrony, zapakowanie potrzebnych rzeczy w odpowiedniej ilości i rozmiarze... a jak wiadomo zespół inżynierów i specjalistów aplikacyjnych do małych nie należy! W sumie to obecnie prawie 80 osób rozmieszczonych na terenie całego kraju. Mamy nadzieję, że chociaż w ten sposób my – pracownicy biurowi, mogliśmy sprawić, aby osoby na pierwszej linii ognia poczuły się bezpiecznie.

Aleksandra Rosak, Professional Services Department Coordinator



Karolina Reszuta, Product Specialist

Kiedy wydaje ci się, że już naprawiłeś to, co stanowiło problem i myślisz o tym wspaniałym oddechu w samochodzie bez maski... Wtedy okazuje się, że to jeszcze nie koniec dnia, że właśnie dostałeś kolejne zlecenie. Dobrze, że są koledzy z zespołu, którzy przybywają z pomocą w tych trudnych momentach...

Marcin Kanarek, Service Engineer

Powyższe wypowiedzi bardzo obrazowo oraz w sposób charakterystyczny dla zespołów WSPARCIA KLIENTA – z dużym humorem, lecz także z oddaniem i zaangażowaniem pokazują, że choć każdy z nas ma obawy, każdy z nas boi się o siebie i o swoich bliskich, to działamy w niemal taki sam sposób, jak przed nastaniem pandemii.

Gdy wpływa zgłoszenie i potrzebna jest wizyta, bez wahania ją realizujemy. Z pełną świadomością czyhających zagrożeń czy niebezpieczeństw, nierzadko z duszą na ramieniu... Są osoby, które uważają nas za bohaterów, są też tacy, którzy mówią – cóż, taka praca. My nie stajemy po żadnej ze stron. Nauczyliśmy się radzić sobie indywidualnie z otaczającą nas sytuacją.

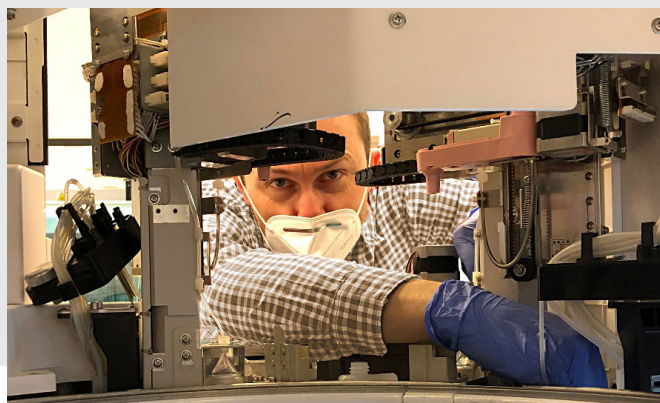
Jestem pewien, że wielu z nas w czasach pandemii COVID-19 niejednokrotnie przeżyło momenty zwątpienia czy też chwile grozy. Mimo to, co dzień rano wstajemy, uśmiechamy się do lustra i z optymizmem zastanawiamy się, gdzie dziś nas rzuci los.

Kiedy pytam koleżanki, kolegów często słyszę odpowiedź: „staram się o tym nie myśleć”. I to chyba jest najlepsza puenta. Działamy instynktownie, mamy bowiem pełną świadomość, że teraz – jak nigdy wcześniej Klienci potrzebują naszego profesjonalizmu, wie-

Nasi przedstawiciele handlowi Katarzyna Lach-Gapys oraz Janusz Strzelecki prowadzili rozmowy dotyczące wdrożenia testów immunochemicznych anti-SARS-CoV-2 z Przedstawicielami Warsaw Genomics, którzy już oznaczali próbki pacjentów pod kątem wykrycia SARS-CoV-2 metodą PCR.

W Warsaw Genomics nigdy wcześniej nie pracowano na naszych analizatorach wykonujących oznaczenia immunochemiczne. Wszelkie wątpliwości merytoryczne odnośnie oznaczania jak i schematu działania samego testu pomogła rozwiązać Aneta Niciejewska – Product Manager. Artur Ojdana wraz z Karoliną Reszutą – nasi Specjaliści do spraw aplikacyjnych i technicznych przeprowadzili online prezentację analizatora **cobas e 411**, na którym docelowo miały być oznaczane próbki. Współpraca działów: Sprzedaży, Marketingu i RCSC zaowocowała pomyślną decyzją podjętą przez Klienta. Wielkie sukcesy tworzymy wspólnie.

Po instalacji i szkoleniu wprowadzającym, Karolina przeprowadziła doszkolenie już podczas rutynowego oznaczania przeciwciał. Kolejne spotkanie pozwoliło na lepsze wzajemne poznanie się i stworzenie świetnej atmosfery współpracy.



dzy, umiejętności, a przede wszystkim wsparcia w ich pracy, gdyż to w ich placówkach/laboratoriach rozgrywa się walka o wynik, walka o pacjenta, walka o ludzkie życie.



Roman Kozdra,
Area Service Manager

„Odwaga nie polega na nieodczuwaniu strachu, lecz na uznaniu, że coś jest ważniejsze niż lęk.”

Ambrose Redmoon

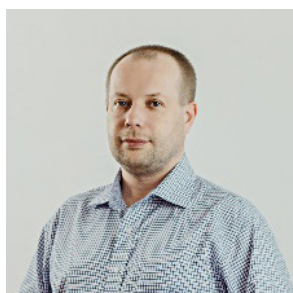
Regionalne Centrum Wsparcia Klienta (RCSC) - Sieć Technicznych Managerów Produktowych (TPM)

Nasze atuty:

- Wiedza i doświadczenie
- Szybka reakcja na zgłoszenia Klientów
- Współpraca z zespołami TPM i RCSC z innych krajów

Ponadto:

- Szkolimy specjalistów aplikacyjnych i technicznych
- Wspieramy inżynierów w terenie
- Mamy dostęp do analizatorów w miejscu pracy



Tadeusz Kufa

TPM Point of care IT
systemy IT 1000/POC IT

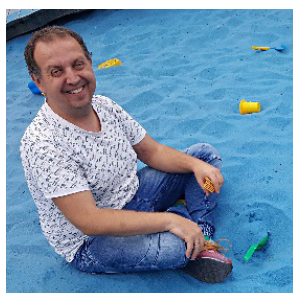
Zainteresowania: jazda na rowerze,
żeglarstwo, gotowanie.



David Papp

TPM **cobas** 6000

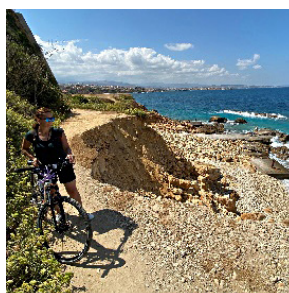
Zainteresowania: gotowanie dla
rodziny i znajomych, natura, filmy,
jazda na rowerze, gry video.



Adam Laszko

TPM RDA
systemy: pre i postanalizacyjne

Zainteresowania: filmy, piłka nożna.



Karolina Stasiak-Tomiałojć

TPM Immunologia SWA*

Zainteresowania: zajęcia na świeżym
powietrzu, zwiedzanie nowych
miejsc, snowboard, jazda na
rowerze, literatura faktu.



Daniel Tomiałojć

TPM RMD wsparcie techniczne

Zainteresowania: snowboard,
grillowanie.



Karolina Reszuta

TPM Chemia kliniczna SWA*

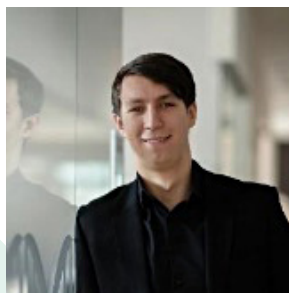
Zainteresowania: natura, kajaki
oraz tradycyjna kuchnia.



Mariusz Żak

TPM RMS wsparcie aplikacyjne

Wolny czas lubię spędzać blisko natury.



Alexander Limov

TPM **cobas** RTD IT, **cobas** IT middleware

Zainteresowania: filmy, podróże, sporty.



Peter Surina

TPM c6800 wsparcie techniczne

Jestem optymistą, sprawdzającym pesymizm.



Maciej Łaszczuk

Lider TPM
Analiza moczu

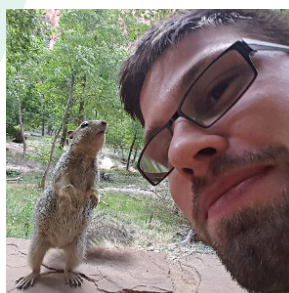
6500 powodów żeby tu być.



Artur Ojdana

TPM **cobas** 8000

Zainteresowania: podróże,
jazda na rowerze, fotografia.



Petr Juřík

TPM HosPoC

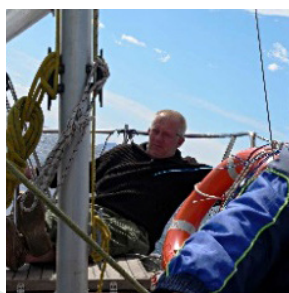
Zainteresowania: gry, podróże,
technologia i spanie.



Dorota Makovska

TPM Koagulologia

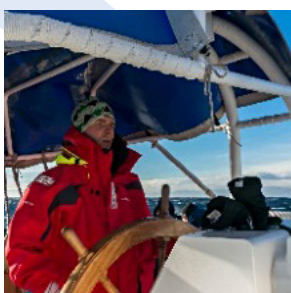
Zainteresowania: muzyka, podróże,
książki.



Robert Matusiak

TPM BGA

Zainteresowania: żeglowanie
oraz odkrywanie nowych wysp.



Jakub Pałkowski

TPM Zaawansowane barwienie

Każdy aparat działa dopóki się nie zepsuje.



Daniela Grejtakova

TPM RLS wsparcie aplikacyjne

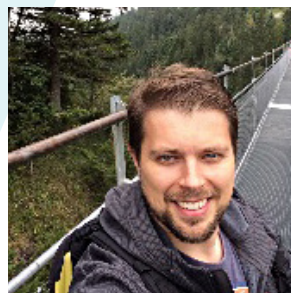
Zainteresowania: miłośniczka
jedzenia, sztuki i podróży.



Ryszard Kościelecki

TPM **cobas** 4000

Zainteresowania: sport, wszechświat.



Grzegorz Szewczyk

TPM RLS

Uczciwość, odwaga, pasja – wszystko o mnie!



Ryszard Tomiałojć

TPM Integra 400 i **cobas c** 111

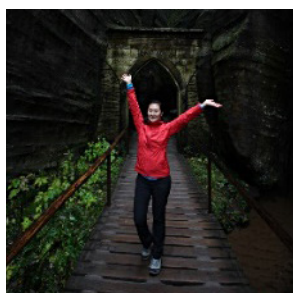
Zainteresowania: aktywność na świeżym powietrzu – kamping, latem rower, snowboard zimą.



Aleksandra Januszkiewicz

TPM RTD wsparcie aplikacyjne

Zainteresowania: miłośniczka wszystkiego związanego z muzyką śpiewu, słuchania, grania i tańca.



Sargylana Zajęcka

TPM Podstawowe barwienie techniczne

Zainteresowania: dziewiarstwo, podróże, pieczenie słodkości oraz fotografia.



Paweł Rzesutek

TPM **cobas** infinity

Zainteresowania: książki sci-fi, gry wideo, II WŚ, pływanie.

Legenda:

*SWA - ang. Serum Work Area - badania wykonywane w surowicy

TPM RDA - ang. Roche Diagnostics Automation Solutions - Rozwiązania automatyzacyjne Roche

TPM RMD - ang. Roche Molecular Diagnostics - Diagnostyka Molekularna Roche

TPM RMS - ang. Roche Molecular Solutions - Rozwiązania Molekularne Roche

TPM HosPoC - ang. Hospital Point of care - Szpitalna diagnostyka przy łóżku pacjenta

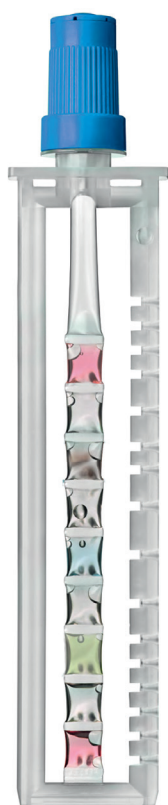
TPM BGA - ang. Blood Gas Analysis - Badanie równowagi kwasowo- zasadowej

TPM RLS - ang. Roche Life Science - Diagnostyka w naukach przyrodniczych Roche

TPM RTD - ang. Roche Tissue Diagnostics - Diagnostyka tkankowa Roche

Test cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B*

Zmniejsz ryzyko błędnej diagnozy stosując dokładny test RT-PCR, któremu możesz zaufać



- **Jedna próbka, jeden test, 20 minut**
i już wiesz czy to jest COVID-19 czy grypa.
- **Pozbądź się nadmiernego obciążenia**, poczuj ulgę wykonując testy z prostym intuicyjnym przebiegiem pracy.
- **Zminimalizuj ryzyko zanieczyszczeń krzyżowych** i ogranicz ekspozycję na wirusy w trakcie wykonywania testu w systemie zamkniętym.

* Test przeznaczony jest wyłącznie do użytku profesjonalnego

Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.
ul. Bobrowiecka 8
00-728 Warszawa
22 481 55 55
polska.diagnostics@roche.com
www.roche.pl

© 2020 Roche Diagnostics Polska

mPOC-2020-01



©2020 Roche Diagnostics Polska

Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.
ul. Bobrowiecka 8
00-728 Warszawa
22 481 55 55
polska.diagnostics@roche.com

www.roche.pl



Projekt i realizacja:
EDC Expert Direct Communication Sp. z o.o.

ISSN 1644-8448, nakład: 1000 egz.