

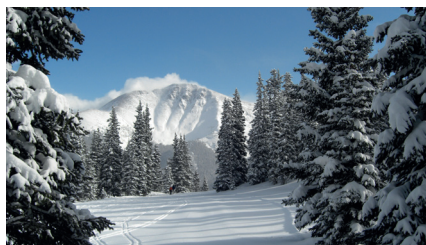


ISSN 1644-8448
nakład: 1000 egz.

LabForum



cobas[®]
Life needs answers



Nadchodzące Święta Bożego Narodzenia niosą ze sobą wiele radości oraz refleksji dotyczących minionego okresu i planów na nadchodzący nowy rok. W tych wyjątkowych dniach chcemy życzyć Państwu wiele zadowolenia i sukcesów z podjętych wyzwań. Dziękujemy za kolejny rok naszej współpracy.

Szanowni Państwo,

Pragnę poinformować, że Roche opracował światowy program dostępności testów do monitorowania wirusii HIV pod nazwą Global Access Program. Jest on przeznaczony szczególnie dla krajów o niższym PKB.

Program ogłoszony pod koniec września podczas 69 sesji Zgromadzenia Ogólnego Narodów Zjednoczonych w Nowym Jorku jest wynikiem współpracy z UNAIDS (Wspólny Program Narodów Zjednoczonych ds. HIV/AIDS), CHAI (*Clinton Health Access Initiative*), PEPFAR (Planu awaryjnego ds. pomocy w leczeniu AIDS) oraz Światowego Funduszu Walki z AIDS, gruźlicą i malarią.

W celu wsparcia programu, Roche zobowiązał się do rozszerzenia dostępu do testu COBAS AmpliPrep / COBAS TaqMan HIV-1 Test wersja 2.0 poprzez zaoferowanie specjalnego systemu cen dla organizacji kwalifikujących pacjentów do leczenia.

Optymalizacja wykorzystania diagnostyki będzie mieć kluczowe znaczenie dla osiągnięcia celów UNAIDS do roku 2020, sformułowanych jako 90:90:90. Cel ten oznacza, że 90% wszystkich osób żyjących z HIV będzie miało wiedzę na temat swojego statusu serologicznego, 90% wszystkich osób z rozpoznany zakażeniem HIV otrzyma trwały leki antyretrowirusowe, a u 90% wszystkich osób przyjmujących leki antyretrowirusowe odnotuje się trwałą supresję wirusa.

„Global Access Program to duży krok naprzód w zakresie poprawy jakości opieki nad pacjentami z HIV i w zapobieganiu przenoszenia się choroby”, powiedział David Ripin, wiceprezes CHAI. „Godna podziwu jest szybka reakcja na wyzwanie rzucone przez UNAIDS podczas konferencji nt. AIDS w 2014, aby zwiększyć dostęp do wysokiej jakości leczenia dla pacjentów żyjących z HIV i chorych na AIDS. CHAI jest dumny z bycia częścią tego partnerstwa i oczekuje dalszej współpracy z Roche, rządami krajów i innymi partnerami w celu zapewnienia, że warunki programu przełożą się na zwiększony dostęp pacjenta do leczenia”.

Więcej informacji na stronie:

http://www.roche.com/media/media_releases/med-cor-2014-09-26.htm

Zachęcam do lektury bieżącego numeru, w którym znajdą Państwo artykuły nt. diagnostyki niepłodności, ocenę pracy i jakości oznaczeń stężenia glukozy wykonywanych na analizatorach ACCU-CHEK Inform II oraz algorytm badań w profilaktyce raka szyjki macicy.

Z poważaniem,

Tomáš Petr

wraz z zespołem RDP

Spis treści:

Czym jest niepłodność?	3
Ocena systemu Accu-Chek Inform II na podstawie testów przeprowadzonych na oddziałach szpitalnych.	9
Nowy algorytm badań przesiewowych w profilaktyce raka szyjki macicy	16

Czym jest niepłodność?

prof. dr hab. n. med. Krzysztof Łukaszuk, kierownik Klinik Leczenia Niepłodności INVICTA w Gdańsku, Warszawie i we Wrocławiu

RYS HISTORYCZNY I SKALA ZJAWISKA

W 1978 roku poczęło się pierwsze dziecko po zastosowaniu zapłodnienia pozaustrojowego – medialnie nagłościone jako zapłodnienie *in vitro*.

Od tego momentu rozpoczęła się rewolucja w pojmowaniu niepłodności oraz mówieniu o problemie. Dotychczasowy temat tabu stał się przedmiotem debaty publicznej. Dzięki powszechnemu dostępowi do informacji, znaczna część społeczeństwa uzyskała wiedzę o nowych możliwościach medycyny. Wzrosła tym samym świadomość konsekwencji niepłodności, także w wymiarze indywidualnych ludzkich historii.

Z uwagi na medialną atrakcyjność zagadnienia oraz kontrowersje natury etycznej czy prawnej, jakie mu towarzyszą, temat niepłodności jest poruszany niezwykle często, w różnych kontekstach. Mówi się o wzroście liczby par bezskutecznie starających się o potomstwo. Dziennikarze i eksperci szukają przyczyny problemów we wzroście zachorowalności na choroby przenoszone drogą płciową, swobodzie seksualnej i wczesnej inicjacji. Niektórzy podkreślają znaczący spadek parametrów nasienia mężczyzn, widząc w tym zagrożenie gatunku. Rzeczywistość nie jest jednak aż tak pesymistyczna.

Problem niepłodności rośnie przede wszystkim z powodu coraz dłuższego odwlekania przez kobiety decyzji o ciąży. Parametry nasienia w populacji nie pogarszają się, a odpowiednia profilaktyka zdrowotna i właściwe nawyki higieniczne kobiet sprawiają, że niegdyś powszechny problem niedrożności jajowodów z powodu przebytych stanów zapalnych staje się rzadkością (nie zmienia to nadal istniejącego problemu niedrożności jajowodów związanych z endometriozą). Większa świadomość społeczna problemu powoduje, że niepłodne pary częściej i znacznie wcześniej zgłaszają się na konsultację ze specjalistą. Powszechny dostęp do Internetu umożliwia pacjentom szybkie pozyskanie wiedzy i ogranicza możliwość nadużyć w leczeniu – niegdyś wstydliwego – problemu.

DEFINICJA NIEPŁODNOŚCI

Obecnie za niepłodność uznaje się stan, w którym starający się o dziecko ludzie nie mogą uzyskać ciąży regularnie współżyjąc (3-5 razy w tygodniu) w celu prokreacji bez stosowania metod antykoncepcyjnych, przez minimum 12 miesięcy.

Średnią płodność zdrowych młodych ludzi szacuje się na około 23 % na cykl. W ciągu 3 cykli ciążę uzyska 57% par, w czasie pół roku – 72%, a po roku tylko 15% starających się będzie nadal oczekiwała na ciążę. W drugim roku starań ponad połowa z nich poczne dziecko, a niepłodnych pozostanie jedynie 7%.

Nowsze badania wskazują, że zdrowe kobiety zachodzą w ciążę potwierdzoną klinicznie w 50% podczas pierwszych 2 cykli. Podczas 6 cykli ciążą kończą się starania 80-90% kobiet. Choć dane te wymagają dalszych badań, wskazują, że w odpowiednich warunkach większość zdrowych par ma szansę począć dziecko relatywnie szybko. Problem niepłodności rzadko dotyczy tylko jednej strony – z jednoznaczną niepłodnością mamy do czynienia w przypadku menopauzy czy obustronnej niedrożności jajowodów u kobiety oraz braku nasienia u mężczyzny. Zwykle stwierdza się tzw. podpłodność (obniżoną płodność) obojga partnerów. W konsekwencji znacznie trudniejsze jest postawienie diagnozy – przyczyna problemów z zajściem w ciążę jest niełatwa do zidentyfikowana i wcale nie musi być jednoznaczna.

PRZYZCZYNY PROBLEMU

Klasyczna klasyfikacja przyczyn niepowodzeń rozrodu nadal opiera się na poszukiwaniu odpowiedzialnej za problem strony. Mówi się zatem o niepłodności żeńskiej, męskiej



cobas e 601

· system immunochemiczny przeznaczony dla średnich i dużych laboratoriów



cobas® 6000

· zintegrowany system biochemiczno-immunochemiczny



cobas e 411

· system immunochemiczny przeznaczony dla małych i średnich laboratoriów

i partnerskiej. Tymczasem z perspektywy praktyki klinicznej, znacznie użyteczniejsze wydaje się być podejście, w którym niepłodność traktuje się jako zjawisko występujące w kontekście pary, problem partnerski. Taka perspektywa pozwala odpowiednio dostosować diagnostykę i szerzej spojrzeć na możliwości prowadzenia leczenia – mimo tego, że w większości przypadków, niezależnie od przyczyny, działania medyczne dotyczyć będą kobiet.

ZABURZENIA PŁODNOŚCI Kobiet

W odróżnieniu od diagnostyki męczyzny, diagnostyka płodności kobiet jest wyjątkowo złożona. Część zaburzeń może zostać stwierdzona na podstawie wywiadu i prostych badań obrazowych lub laboratoryjnych. W niektórych przypadkach konieczne jest jednak wykonanie diagnostyki znacznie bardziej skomplikowanej, np. możliwej wyłącznie podczas zabiegów chirurgicznych. Najczęstsze przyczyny niepłodności kobiecej to:

- A. związane przede wszystkim z wiekiem kobiety
 - obniżona rezerwa jajnikowa,
 - zaburzenia genetyczne komórek jajowych i zarodków,
- B. Zaburzenia owulacji
- C. Zaburzenia drożności jajowodów
- D. Patologie miednicy mniejszej
- E. Zaburzenia immunologiczne

A. PŁODNOŚĆ Kobiety A WIEK

Płodność kobiety zależy przede wszystkim od jej wieku. Optymalnym z perspektywy biologii czasem na posiadanie potomstwa jest okres między 15 a 30 rokiem życia. Już od 25 roku życia płodność kobiety obniża się, a zanika około 42 roku życia. Największe znaczenie w tym kontekście ma liczba posiadanych komórek jajowych. Ich zapas nazywany jest rezerwą jajnikową. Kobieta nigdy nie produkuje nowych komórek jajowych – powstają one jeszcze na etapie życia płodowego dziewczynki (najwięcej jest ich ok. 16-20 tygodnia ciąży – 6-7 mln). W okresie pokwitania (około 11 roku życia) liczba komórek jajowych wynosi ok. 300 000. Od okresu pokwitania do około 35 roku życia kobieta traci około 20 oocytów dziennie. Po 35 roku życia proces ten przyspiesza do około 30-40 dziennie. W okresie okołomenopauzalnym pacjentka nie ma już praktycznie żadnych komórek jajowych, a kilka lat wcześniej posiada już niemal wyłącznie te bezwartościowe.

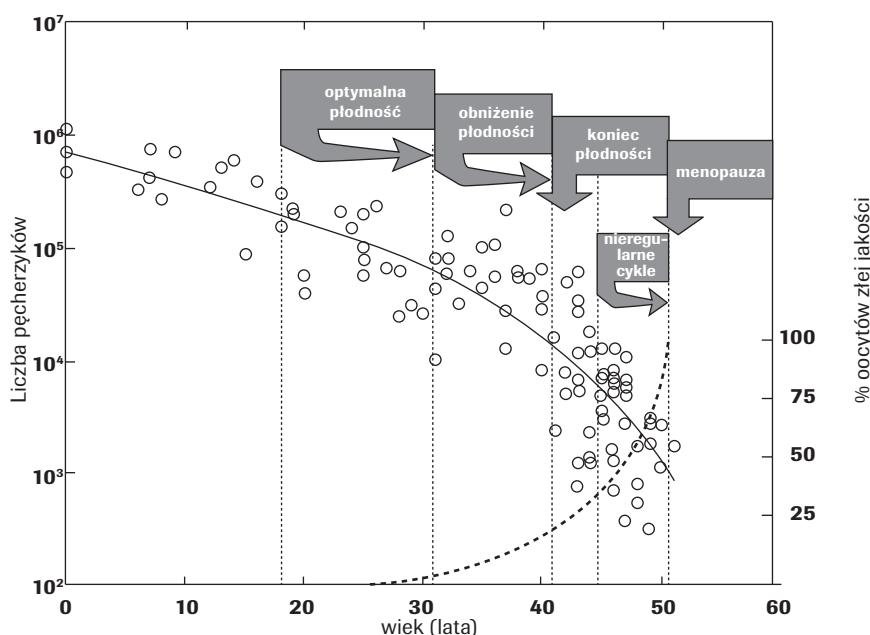
SZACOWANY ODSETEK NIEPŁODNYCH KobiET W POSZCZEGÓLNYCH GRUPACH WIEKOWYCH

Liczba kobiet, które nie zaszły w ciążę		
Wiek zamążpójścia	Po 18 miesiącach	Procentowo
20-24	1 261	8%
25-29	4 660	11%
30-34	6 439	22%
35-39	3 472	32%
Ogółem niepłodność	15 832	18%

Określenie poziomu rezerwy jajnikowej jest najważniejszym momentem oceny płodności kobiet. W tym celu stosowane były takie parametry jak: oznaczanie stężenia FSH w 3 dobie cyklu oraz estadiolu w tym samym dniu cyklu, reakcja jajników na podawanie clostilbegytu, gonadotropin

oraz analogów GnRH, a także pomiar objętości jajnika czy też biopsja jajnika z histopatologiczną oceną obecności komórek jajowych w próbce. Badania te są jednak mało przydatne i często kłopotliwe w realizacji. Obecnie uzasadnione wydają się wyłącznie: pomiar liczby pęcherzyków antralnych w USG dopochwowym w trakcie miesiączki oraz najważniejszy marker – ocena stężenia AMH (*antymüllerian hormone*).

Wiek wpływa nie tylko na liczbę komórek jajowych, ale także na ich jakość. Zmiany hormonalne u kobiety angażują do wzrostu i wykorzystania w pierwszej kolejności najlepsze komórki jajowe. Wysokie stężenia FSH na początku cyklu powoduje rekrutację gotowych do wzrostu komórek jajowych. Na początku życia rozrodczego kobiety już niewielkie stężenia FSH wzbudzają do wzrostu najlepsze komórki. Z wiekiem i spadkiem zapasu komórek, stężenie FSH musi znacząco zwiększyć się, żeby zrekrutować komórki słabsze, a więc wymagające wyższych stężeń FSH do wzrostu. Gorsza jakość komórek odbija się na rozwoju powstających z nich zarodków.



● **Ilościowe** (ciągła linia) i **jakościowe** (przerywana linia) **obniżenie rezerwy** jajnikowej, które określają zdolność do reprodukcji

Broekmans, F.J. et al. *Hum Reprod*
Update 2006 12:685-718

Kolejnym zjawiskiem związanym z wiekiem jest obniżenie genetycznej jakości komórek jajowych. Jest to mechanizm chroniący kobietę przed późną, ryzykowną dla jej zdrowia ciążą. Częstość zaburzeń DNA zarodków bardzo silnie wiąże się z wiekiem kobiety. Już u kobiet 30-letnich 40% komórek jajowych ma nieprawidłowości genetyczne o typie zmiany liczby chromosomów (aneuploidia). U kobiet 35-letnich jest tych zaburzeń około 56%, a u 40-letnich – około 80%. Zarodki z aneuploidią rozwijają się w pierwszym etapie podobnie jak zarodki zdrowe, normalna obserwacja pod mikroskopem nie daje możliwości identyfikacji zmiany. Rozwiązaniem umożliwiającym analizę materiału genetycznego zarodka i ograniczenia ryzyka poronień lub narodzin chorego dziecka jest diagnostyka preimplantacyjna (PGD, *preimplantation genetic diagnosis*).



cobas e 601

· system
immunochemiczny
przeznaczony dla
średnich i dużych
laboratoriów



cobas e 411

· system
immunochemiczny
przeznaczony dla
małych i średnich
laboratoriów

Tabela 1. Porównanie wskaźnika implantacji i aneuploidii pomiędzy biopsją w 3 i 5/6 dniem w poszczególnych grupach wiekowych SART.

Biopsja Dzień 3			Biopsja Dzień 5/6		
Grupa wiekowa (lata)	Implan. ^{a,b} (+Sac)	wskaźnik aneuploidii ^{c,d}	grupa wiekowa (lata)	Implan. ^{a,b} (+Sac)	wskaźnik aneuploidii ^{c,d}
<35	40,6% (73/180)	53,1% (530/999)	<35	51,1% (119/233)	31,7% (306/966)
35-37	43,6% (44/101)	68,2% (420/616)	35-37	54,2% (65/120)	44,2% (237/536)
38-40	42,1% (59/140)	73,7% (659/894)	38-40	47,2% (59/125)	43,1% (324/751)
41-42	31,6% (18/57)	85,8% (460/536)	41-42	40,4% (19/47)	76,3% (200/262)
>42	7/30	92,6% (340/367)	>42	5/18	84,8% (112/132)
Wartość p	NS	<0,001	Wartość p	NS	<0,001
Ogółem	39,6% (201/508)	70,6% (2409/3412)	Ogółem	49,2% (267/543)	47,8% (1179/2467)

Uwaga: Implan. (+Sac) = stopień zagnieżdżenia mierzony obecnością pęcherzyka ciążowego przy pomocy USG; NS= nieistotne.

^a istnienie związku między wiekiem i wskaźnikiem implantacji badano stosując test zgodności chi-kwadrat ($2 \times 2 \times 5$) (χ^2). (χ^2) wynosiło 12,4 z 9 stopni swobody ($0,1 < p < 0,2$). Brak istotności tej wartości (χ^2) oznacza, że nie było żadnego znaczącego związku wskaźnika implantacji z grupą wiekową po biopsji zarodków i skryningiem genetycznym.

^b związek między implantacją i biopsją dzień 3 w porównaniu do biopsji 5/6 dnia badano stosując test zgodności chi-kwadrat (2×5). (χ^2) wynosiło 16,1 z 5 stopni swobody ($0,0005 < p < 0,01$), kiedy obserwacje dnia 3 zostały testowane względem oczekiwań dnia 5/6. Znaczenie wartości (χ^2) oznacza, że częstość implantacji była związana z dniem wykonania biopsji.

^c istnienie związku między wiekiem i wskaźnikiem aneuploidii badano stosując test zgodności chi-kwadrat ($2 \times 2 \times 50$) (χ^2). (χ^2) wynosiło 559 z 9 stopni swobody ($p < 0,001$). Znaczenie tej wartości (χ^2) oznacza, że istnieje znamieny związek pomiędzy częstością aneuploidii a wiekiem pacjenta.

^d związek między ploidią i biopsją dnia 3 w porównaniu do biopsji 5/6 dnia badano stosując test zgodności chi-kwadrat (2×5). (χ^2) wynosiło 739 z 5 stopni swobody ($p < 0,001$), kiedy obserwacje dnia 3 zostały testowane względem oczekiwań dnia 5/6. Znaczenie wartości (χ^2) oznacza, że częstość występowania aneuploidii związana jest z dniem wykonania biopsji.

B. ZABURZENIA CYKLU

Dość często przyczyną trudności z poczęciem są zaburzenia cyklu. Zazwyczaj stwierdza się brak wzrastających pęcherzyków i/lub problemy z pęknięciem pęcherzyka. W obu przypadkach powodem mogą być zaburzenia hormonalne. Najczęściej występujące to zespół policystycznych jajników. Wśród zaburzeń hormonalnych należy zwrócić uwagę na nadmiar AMH (czyli w dawnych czasach podwyższony poziom LH w stosunku do FSH w 3 dniu cyklu), nadmiar prolaktyny (PRL) oraz nadmiar androgenów (testosteronu).

C. ZABURZENIA DROŻNOŚCI JAJOWODÓW

Brak drożności jajowodów stanowi dość powszechną przyczynę zaburzeń płodności. Zwykle istnienie niedrożności podejrzewa się, jeżeli pacjentka przeżyła stany zapalne podbrzusza (miednicy mniejszej), ma zdiagnozowaną endometriozę lub poddana była zabiegom operacyjnym w tej okolicy z dowolnej przyczyny.

D. PATOLOGIE MIEDNICY MNIEJSZEJ

Najważniejszą patologią tego rodzaju jest endometrioza. Inne ważne z perspektywy płodności zmiany to zrosty w okolicy jajowodów. Niepłodność wynikająca z rozwoju endometriozy, nie jest wystarczającym wskazaniem do jej operacyjnego usuwania. Leczenie zachowawcze przynosi porównywalne rezultaty bez narażania pacjentki na, niejednokrotnie dość poważny, zabieg.

E. ZABURZENIA IMMUNOLOGICZNE

Zaburzenia immunologiczne stanowią całą grupę problemów o zróżnicowanej przyczynie i zróżnicowanym rokowaniu. Jest to marginalny problem pod względem częstotliwości występowania, jednak dość kłopotliwy w diagnostyce i leczeniu. Szczególną grupą pacjentek z zaburzeniami immunologicznymi jest niewielka część kobiet, które często ronią ciążę.

ZABURZENIA PŁODNOŚCI MĘŻCZYZN

Okres najwyższej płodności mężczyzn przypada na wiek 25 lat. Wraz z wiekiem zachodzą zmiany spermatogenezy, stopniowo zmniejsza się objętość nasienia, ruchliwość i odsetek prawidłowo zbudowanych plemników, ale nie liczba plemników. Z drugiej strony mężczyźni zachowują możliwość reprodukcji nawet w okresie starzenia się, a wpływ wieku jest znacznie mniej wyraźny niż u kobiet.

PARAMETRY NASIENIA WEDŁUG NORM WHO

Parametry nasienia wg norm WHO		
Parametr	Normy WHO do 2010	Normy WHO od 2010
Abstynencja	2-7 dni	2-7 dni
Upłynnienie	30-60 min.	30-60 min.
Objętość	2 ml	1,5 ml
Ilość plemników w ejakulacie	40 mln	39 mln
Ilość plemników w 1ml	20 mln	15 mln
Ruchliwość	50%	40%
Ruch progresywny (A+B)	50%	32%
Żywotność	75%	58%
Morfologia	30%	4%

Na zmniejszanie się płodności mężczyzn oddziałuje wiele czynników środowiskowych. Rodzaj i obciążenie pracą zawodową może mieć wpływ na pogorszenie parametrów nasienia, a także większe ryzyko wad genetycznych oraz chorób uwarunkowanych genetycznie u potomstwa. Problemy mogą pojawić się w wyniku długotrwałej ekspozycji gonad na ciepło w temperaturze powyżej 38°C, narażenia ich na promieniowanie jonizujące, wibrację, kontakt z metalami ciężkimi, rozpuszczalnikami organicznymi, pestycydami. Teoretycznie znajdujące się w otoczeniu źródła ciepła, noszenie obcisłej bielizny, trzymanie laptopa na kolanach, noszenie telefonu w kieszeni, częste gorące kąpiele, mogą obniżyć płodność, jednak nie potwierdzają tego badania kliniczne. Obecnie pomijany jest efekt termiczny telefonów komórkowych, natomiast zwraca się uwagę na intensywność i częstotliwość fal elektromagnetycznych oraz ich wpływ na obniżenie płodności mężczyzn. Niehigieniczny, nieregularny tryb życia nie pozostaje bez znaczenia - praca zmianowa, częste podróże wpływają na zaburzenia rytmu dobowego niejednokrotnie wiążąc się z codziennym stresem i przemęczeniem, co w połączeniu z niską aktywnością fizyczną, nadmierną wagą może prowadzić do spadku poziomu testosteronu oraz obniżenia potencji. Wydaje się jednak, że także nadmierne ćwiczenia fizyczne wpływają na zaburzenia płodności - wiąże się to z obniżonym poziomem testosteronu oraz zmianami w poziomie LH i GnRH u intensywnie trenujących mężczyzn. Wysiłek fizyczny może prowadzić do podwyższenia temperatury i mikrourazów jąder. Warto podkreślić niekorzystny wpływ palenia papierosów, alkoholu i narkotyków na płodność mężczyzn poprzez obniżenie jakości nasienia oraz poziomu testosteronu. Palenie tytoniu wpływa na zmniejszenie ruchliwości i liczby prawidłowych plemników w nasieniu, które cechują się krótszą przeżywalnością. Heroina i morfina wpływają na pogorszenie jakości nasienia i prowadzą do zaburzeń seksualnych. Należy pamiętać, że również niektóre leki mogą działać toksycznie na gonady np. przyjmowanie sterydów anabolicznych może wiązać się z długotrwałymi i nieodwracalnymi skutkami. Płodność mężczyzn może być przejściowo upośledzana przez choroby gorączkowe powodujące



cobas e 601
· system
immunochemiczny
przeznaczony dla
średnich i dużych
laboratoriów



cobas® 6000
· zintegrowany system
biochemiczno-
immunochemiczny



cobas e 411
· system
immunochemiczny
przeznaczony dla
małych i średnich
laboratoriów

znaczące obniżenie zawartości i ruchliwości plemników w nasieniu. Długotrwały wpływ na płodność mają choroby układowe np. cukrzyca, mukowiscydoza. Istotną rolę mogą odgrywać także zakażenie narządów miednicy mniejszej np. zapalenie jąder w przebiegu świnki wpływa na parametry nasienia poprzez bezpośrednie zaburzenie spermatogenezy, czy infekcje gruczołów dodatkowych (prostaty, pęcherzyków nasiennych). Operacje w obrębie miednicy mniejszej mogą prowadzić do uszkodzenia nasieniowodów, przerywać szlaki nerwowe powodując zaburzenia ejakulacji.

ZABURZENIA PŁODNOŚCI U PARY

Najczęściej niepłodność jest problemem wspólnym kobiety i mężczyzny, dotyczy bowiem par, w których każdy z partnerów jest podpłodny. Warto w tym kontekście wspomnieć o sporadycznych sytuacjach, w których problem istnieje wyłącznie w danej parze osób, tzn. po zmianie partnera przestałby negatywnie wpływać na możliwość uzyskania ciąży. Przykładem może być fragmentacja DNA plemników. Jeżeli partner ma wysoki odsetek plemników ze zniszczonym materiałem genetycznym – stanowi to przyczynę problemów z zająciem w ciążę, a także częstą przyczynę poronień. Z drugiej strony komórka jajowa posiada mechanizmy naprawcze tych uszkodzeń. U jednej kobiety są one bardzo sprawne i mogą zniwelować nieprawidłowości. Komórki innej kobiety mogą nie posiadać tak skutecznych mechanizmów naprawczych – nie poradzą sobie z uszkodzeniami. Taka kobieta w partnerem o znacznej fragmentacji DNA plemników będzie częściej traciła ciążę.

DIAGNOSTYKA PARY

Podstawowa diagnostyka niepłodności obejmować powinna:

Wywiad: wiek, czas trwania niepłodności, regularność i częstość stosunków płciowych, wcześniejsze stosowanie środków antykoncepcyjnych, wywiad miesiączkowy (wiek menarche, regularność i długość trwania cykli, obfitość i bolesność krwawienia, ewentualne objawy owulacji) i położniczy (porody naturalne i zabiegowe, o czasie i przedwczesne, poronienia i ciążę ektopowe, powikłania po zabiegach), występowanie wrodzonych chorób w rodzinie, choroby przenoszone drogą płciową, przebyte zapalenia przydatków, schorzenia ogólnoustrojowe (niedoczynność i nadczynność tarczycy, cukrzyca, niewydolność wątroby i nerek, choroby autoimmunologiczne), przebyte operacje (usunięcie wyrostka robaczkowego, zabiegi na jajnikach, macicy), stosowane leki (neuroleptyki, cytostatyki, metoclopramid, leki hipotensyjne, steroidy płciowe) i używki (tytoń, alkohol, narkotyki), wcześniejszy proces diagnostyczny.

Badanie kliniczne: BMI, zmiany masy ciała w ciągu ostatniego roku, cechy hiperandrogenizacji, badanie ginekologiczne i cytologiczne szyjki macicy, ewentualnie ocena mikrobiologiczna pochwy i kanału szyjki macicy.

Ogólne badanie nasienia partnera (według standardów WHO)

Test postkoitalny – analiza mikroskopowa próbki śluzu szyjkowego z oceną ilości plemników ruchomych i nieruchomych 6 – 8 godzin po stosunku w okresie „dni płodnych”.

Badania hormonalne: FSH, LH, TSH, przeciwciała antyTPO, estradiol, progesteron, testosteron, SHBG, DHEAS, prolaktyna – test z metoclopramidem, ocena rezerwy jajnikowej (AMH).

USG narządu rodowego.

Ocena drożności jajowodów (histerosalpingosonografia lub HSG).

Na podstawie wyników, pacjentów kwalifikuje się do dalszej, pogłębionej diagnostyki lub proponuje się parze odpowiednie, dostosowane do indywidualnej sytuacji, leczenie.

Ocena systemu Accu-Chek Inform II na podstawie testów przeprowadzonych na oddziałach szpitalnych

Katarzyna Ziółkowska, Centralne Laboratorium, Ginekologiczno-Położniczy Szpital Kliniczny Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

WSTĘP

Badania wykonywane w miejscu opieki nad pacjentem POCT (*point of care testing*) zajmują ważne miejsce w diagnostyce laboratoryjnej.¹

W Ginekologiczno-Położniczym Szpitalu Klinicznym Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu od szeregu już lat do diagnostyki POCT przywiązuje się szczególną wagę, ponieważ są to badania, które wręcz wymuszają wykonanie oznaczeń bezpośrednio po pobraniu materiału. Pierwszymi badaniami przeprowadzanymi w miejscu opieki nad pacjentem były oznaczenia parametrów krytycznych wykonywane w Klinice Neonatologii i na Oddziale Porodowym. Szybka diagnostyka umożliwia natychmiastowe podjęcie decyzji klinicznych, które są nieocenione w przypadku pacjentów w ciężkim stanie. Zgodnie z normą ISO EN 22780:2007 dotyczącą zapewnienia jakości badań diagnostycznych w miejscu opieki nad pacjentem, to diagnostyki laboratoryjnej odgrywają bardzo ważną rolę, sprawując nadzór nad wykonywaniem badań i przebiegiem procesu analitycznego w badaniach przyłóżkowych. W szpitalu udało się wypracować współpracę personelu pielęgniarskiego, który wykonuje badania gazometryczne, glukozy, elektrolitów na Oddziale Porodowym, z diagnostami sprawującymi bezpośredni nadzór nad kontrolą wykonywanych badań oraz obsługą analizatora. Natomiast w Klinice Neonatologii badania gazometryczne, elektrolitów, glukozy, mleczanów wykonuje techniczny personel laboratoryjny nadzorowany przez wyznaczonego diagnostę. Taki system badań w miejscu opieki nad pacjentem umożliwia szybkie uzyskanie wiarygodnego wyniku, który podlega odpowiedniej kontroli, a następnie natychmiastowe podjęcie decyzji klinicznych. W przypadku badań POCT ważne jest stosowanie procedur, zgodnych z wytycznymi normy PN- EN ISO 22780:2007, dotyczącej jakości i kompetencji w zakresie badań w miejscu opieki nad pacjentem. W przypadku zaś oznaczania glikemii u pacjentów na oddziałach, należy spełniać zalecenia normy EN ISO 15197:2003, ze zmianami z roku 2013, która zawiera wymagania dotyczące systemów monitorujących poziom glukozy we krwi do samokontroli u chorych na cukrzycę². Firma Roche, producent analizatorów ACCU-CHEK Inform II, zapewnia, że urządzenia te spełniają wymogi normy EN ISO 15197:2003, a tym samym są wskazane do monitorowania poziomu glikemii na oddziałach szpitalnych. Normy wymagają, aby stosowany sprzęt w sposób szybki i prawidłowy dokonał pomiaru stężenia glukozy w krwi włośniczkowej, a jego wynik był wiarygodny. Diagnosty, którzy odpowiadają za jakość uzyskanego wyniku muszą mieć pewność, że stosowany system kontroli jakości badań jest prawidłowy. Oznaczenia wartości glikemii u pacjentów na oddziałach szpitalnych stanowią bardzo ważną część badań w zakresie diagnostyki POCT, a pełen nadzór nad wykonywanymi badaniami i odpowiedzialność za wiarygodność uzyskiwanych wyników spoczywa na barkach diagnostów laboratoryjnych.

METODYKA

Ocenie poddano 9 analizatorów ACCU-CHEK Inform II firmy Roche Diagnostics, które służą do pomiaru poziomu glikemii poza laboratorium. Testowano je wymiennie na 11 oddziałach szpitalnych, w Punkcie Poboru i Centralnym Laboratorium GPSK UM w Poznaniu. Na oddziałach szpitalnych aparaty były obsługiwane przez personel pielęgniarski, pod nadzorem wyznaczonych diagnostów, w Centralnym Laboratorium sprzęt był obsługiwany przez samych diagnostów. Ocena glukometrów polegała na sprawdzeniu jakości obsługi tych urządzeń oraz współpracy z oprogramowaniem **cobas IT 1000**. W celu ułatwienia tej analizy przygotowano dwa rodzaje ankiet – ankietę 1 i ankietę 2.



ACCU-CHEK Inform II
· kompaktowy aparat do monitorowania glikemii przy łóżku chorego



ACCU-CHEK Inform II
w stacji dokującej



ACCU-CHEK Inform II
· zestaw

Wykonano ponad 1000 oznaczeń poziomu glukozy na testowanych urządzeniach, natomiast szczegółowej analizie poddano 124 oznaczenia stężenia glukozy u pacjentów dorosłych, które zostały wykonane na aparatach ACCU-CHEK Inform II i porównane z badaniami wykonanymi na analizatorze **cobas c 311** metodą referencyjną.

W systemie ACCU-CHEK Inform II zastosowano metodę enzymatyczną z elektrochemiczną techniką pomiarową. Innowacyjność tej opatentowanej metody polega na połączeniu dwóch technik elektrochemicznych AC z konwencjonalną DC. W teście paskowym znajduje się zmodyfikowany enzym – dehydrogenaza glukozowa (Mut. Q-GDH), z *Acinetobacter calcoaceticus*, który przekształca glukozę w glukonolakton. Reakcja ta powoduje powstanie prądu stałego, który jest mierzony i jego natężenie przeliczane jest na stężenie glukozy we krwi⁶. Jako metodą referencyjną zastosowano oznaczanie stężenia glukozy w osoczu krwi, zgodnie z zaleceniami Międzynarodowej Federacji Chemii Klinicznej i Medycyny Laboratoryjnej (IFCC), ponieważ glukometr ACCU-CHEK Inform II, zgodnie z zapewnieniami producenta, podaje wartości w odniesieniu do stężenia glukozy w osoczu, pomimo umieszczania na teście paskowym krwi włośniczkowej⁶. W badaniach jako metodą referencyjną zastosowano metodę kolorymetryczną z heksokinazą, na analizatorze **cobas c 311**. Heksokinaza katalizuje reakcję fosforylacji glukozy przy udziale ATP do glukozo-6-fosforanu i ADP. Następnie przebiega reakcja katalizowana przez dehydrogenazę glukozo-6-fosforanową (G6PDH), pod wpływem NAD⁺, następuje utlenianie glukozo-6-fosforanu i powstaje zredukowana forma NADH oraz 6-fosfoglukonolakton. Stężenie zredukowanej formy NADH jest wprost proporcjonalne do stężenia glukozy i jest mierzone jako wzrost absorbancji przy długości fali równej 340 nm.

Uzyskane wyniki odniesiono do zaleceń normy EN ISO 15197:2003, która przedstawia „Wymagania dotyczące systemów monitorujących poziom glukozy we krwi do samokontroli u chorych na cukrzycę”. Zgodnie z normą EN ISO 15197:2003 dotyczącą jakości analitycznej samokontroli glikemii, dla stężeń glukozy <75 mg/dl (<4,2 mmol/l), 95% wyników ma mieścić się w zakresie ± 15 mg/dl (0,8 mmol/l) w porównaniu do wyniku uzyskanego metodą referencyjną, natomiast dla stężeń glukozy ≥ 75 mg/dl ($\geq 4,2$ mmol/l) zakres ten wynosi $\pm 20\%$ ². W normie EN ISO 15197, zmiany z 2013 roku nieznacznie zmieniono te wymagania. Dla stężeń glukozy <100 mg/dl (<5,6 mmol/l) 95% wyników ma mieścić się w zakresie ± 15 mg/dl (0,8 mmol/l) w porównaniu do wyniku uzyskanego metodą referencyjną, a przy stężeniach ≥ 100 mg/dl ($\geq 5,6$ mmol/l) zakres ten wynosi $\pm 15\%$. Norma ta jest zgodna z „zaleceniami Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego (PTD) z roku 2013³. Do porównania wyników zastosowano także siatkę błędów Clarke’a⁴.

CELE BADANIA

Głównym zadaniem testowania systemu ACCU-CHEK Inform II była ocena jakości pracy z tymi urządzeniami oraz zastosowanie oprogramowania **cobas IT 1000** firmy Roche Diagnostics do monitorowania pracy na tych glukometrach. Ocenę przeprowadzono z wykorzystaniem przygotowanych ankiet.

Ankieta dla pielęgniarek zawierała 6 punktów dotyczących obsługi, wyglądu aparatu i wiarygodności uzyskanych wyników (**Ankieta 1**). **Ankieta 2** była adresowana do personelu laboratoryjnego, zawierała 9 punktów, ponieważ diagności pracowali także z systemem komputerowym **cobas IT 1000**.

W ostatnim etapie pracy z testowanymi glukometrami analizie poddano jakość przeprowadzonych oznaczeń stężenia glukozy we krwi. Wyniki 124 pacjentów dorosłych

uzyskane z analizatorów ACCU-CHEK Inform II porównano z metodą referencyjną, co pozwoliło na określenie błędu ocenianych glukometrów i sprawdzenie, czy mieści się on w dopuszczalnych zakresach zaleceń normy EN ISO 15197: 2003, ze zmianami z 2013 roku oraz wymogami PTB, jak również zastosowano siatkę błędów Clarke'a.

PODSUMOWANIE PRACY NA ANALIZATORACH ACCU-CHEK INFORM II

Analizatory ACCU-CHEK Inform II umożliwiają wykonanie oznaczenia z niewielkiej objętości krwi – 0,6 µl, a czas pomiaru wynosi 5 sekund. Zakres pomiarowy systemu wynosi 10–600 mg/dl (0,6 – 33,3 mmol/l), a granica wykrywalności to 10 mg/dl⁵.

Personel pielęgniarski na oddziałach szpitalnych początkowo sceptycznie podchodził do nowych aparatów, jak i do nadzoru laboratorium nad ich pracą, odbierając to raczej jako kontrolę nad poprawnością ich pracy na tych urządzeniach. Analizując ankiety wypełnione przez pielęgniarki obsługujące aparaty stwierdzono, że 39% ankietowanych określa obsługę aparatu jako porównywalną z innymi glukometrami. Większość personelu pielęgniarskiego, 86%, była zadowolona z wielkości wyświetlacza. Dla 56% język menu analizatora był zrozumiały. Połowa ankietowanych uważa, że wielkość aparatu przeszkadza przy wykonywaniu analiz, a 48% stwierdziła, że wielkość analizatora nie ma znaczenia dla przeprowadzenia badania. Natomiast 52% ankietowanych pielęgniarek doceniła szybkość wykonywanego pomiaru, 38% z nich oceniła, że czas oczekiwania na wynik jest podobny do standardowych glukometrów, tylko 10% uważa ten czas za zbyt długi. Accu-Chek Inform II umożliwia sprawne wyszukiwanie wyniku wykonanego kilka godzin wcześniej, jest on łatwo odnajdywalny, doceniło to aż 86% ankietowanych. W ocenie wiarygodności uzyskanego na analizatorze wyniku stężenia glukozy, 47% pielęgniarek stwierdziło, że wynik jest porównywalny z wynikami uzyskanymi w laboratorium, metodą referencyjną, 20% natomiast oceniło brak tej korelacji.

Wśród diagnostów 77% ankietowanych stwierdziło, że obsługa aparatu jest prosta, 62% doceniło przejrzystość ekranu, a wszyscy ankietowani byli zadowoleni z wielkości wyświetlacza. Dla prawie wszystkich diagnostów, język menu był zrozumiały. Dla 85% wielkość aparatu nie ma znaczenia dla komfortu przeprowadzonego badania. Podobnie, jak personel pielęgniarski, pracownicy laboratorium (62%) stwierdzili, że aparat szybko dokonuje pomiaru, 38% uważa, że ten czas jest porównywalny ze standardowymi glukometrami.

Podsumowując analizę obsługi analizatorów Accu-Chek Inform II należy stwierdzić, że personel pielęgniarski obsługuje aparat intuicyjnie, nie zwracając uwagi na ewentualnie popełniane błędy, dlatego pełna kontrola poprawności pracy aparatu musi należeć do personelu laboratoryjnego.

PODSUMOWANIE PRACY Z OPROGRAMOWANIEM COBAS IT1000:

Oprogramowanie **cobas IT 1000** może całkowicie zaspokoić wymagania dotyczące monitorowania pracy na różnorodnej aparaturze w zakresie diagnostyki POCT. Program umożliwiał, na bieżąco, śledzenie pracy i prawidłowej obsługi wszystkich podłączonych i zdefiniowanych analizatorów Accu-Chek Inform II. Analizowano poprawność codziennych kontroli jakości badań, prawidłowość wykonywanych oznaczeń i walidowano uzyskiwane wyniki. Zaobserwowano wiele zalet tego oprogramowania:

- możliwość monitorowania najczęściej pojawiających się błędów przy wykonywaniu badań poziomu glikemii przez personel pielęgniarski – ocena jakości błędów; przy



ACCU-CHEK Inform II
· kompaktowy aparat do monitorowania glikemii przy łóżku chorego



ACCU-CHEK Inform II
· w stacji dokującej



ACCU-CHEK Inform II
· zestaw

dużych nieprawidłowościach możliwość zablokowania użytkownikowi wykonywania badań i poddanie go dodatkowym szkoleniom w zakresie obsługi aparatu i pobierania materiału,

- *kontrola pracy analizatora Accu-Chek Inform II* – komunikaty o błędach w działaniu aparatu lub sieci komputerowej przedstawiane są w programie i umożliwiają podjęcie natychmiastowej reakcji bezpośrednio przy wadliwym aparacie,
- *zaplanowanie częstotliwości kontroli jakości badań na poszczególnych aparatach* – prawidłowy wynik kontroli jakości badań zapewnia wiarygodność wyników na danym analizatorze, a w przypadku nieprawidłowych wyników kontroli, umożliwia zablokowanie wykonania badań na danym aparacie lub uniemożliwienie wykonania badania, gdy kontrola nie została przeprowadzona,
- *możliwość wprowadzenia zakresu wartości referencyjnych i krytycznych dla parametru glukozy*, które dodatkowo informują użytkownika, czy zostały one przekroczone (informacja wyświetla się na monitorze glukometru),
- *korzystanie z tzw. „magazynu odczytników”* – czyli zawiadywanie przez laboratorium zużyciem pasków do oznaczania glukozy.

Jedynymi wadami oprogramowania **Cobas IT 1000**, które zaobserwowano, to zbyt wolne „uwalnianie” zwalidowanych wyników oraz mało czytelny raport z wykonanych badań.

WYNIKI

Dane w **tabeli 1** wskazują, że średni błąd oznaczenia analizatora ACCU-CHEK Inform II wynosił 8,04%. Błędy poszczególnych oznaczeń za pomocą glukometrów a wynikami uzyskanymi metodą referencyjną mieszczą się w zakresie 0–19,72%.

Tabela 2 obrazuje odsetki wyników uzyskanych za pomocą systemu ACCU-CHEK Inform II mierzonych w zakresie ± 15 mg/dl, ± 10 mg/dl, ± 5 mg/dl w odniesieniu do wyników referencyjnych dla stężenia glukozy we krwi < 75 mg/dl oraz odsetki mieszczące się w zakresie $\pm 20\%$, $\pm 15\%$, $\pm 10\%$, $\pm 5\%$ w porównaniu do wyników referencyjnych dla stężenia glukozy we krwi ≥ 75 mg/dl. Wszystkie wyniki uzyskane z analizatorów ACCU-CHEK Inform II mieszczą się w zakresie ± 15 mg/dl dla stężeń glukozy we krwi < 75 mg/dl, jak również 100% uzyskanych wyników dla stężeń glukozy we krwi ≥ 75 mg/dl mieści się w zakresie $\pm 20\%$ w porównaniu z metodą referencyjną.

Wyniki zamieszczone w **tabeli 3** wskazują, że dla stężeń glukozy ≥ 100 mg/dl, jedynie 83,3% uzyskanych wyników mieści się w zakresie $\pm 15\%$ w porównaniu z metodą referencyjną. Dla stężeń glukozy < 100 mg/dl, 95% wyników uzyskanych na ACCU-CHEK Inform II mieści się w zakresie ± 15 mg/dl w porównaniu z metodą referencyjną.

Wykres I przedstawia wyniki uzyskane z analizatorów ACCU-CHEK Inform II oraz metody referencyjnej za pomocą siatki błędów Clarke’a. Większość wyników (97,58%) rozmieszczonych jest w strefie A siatki, jedynie 2,42% wyników znajduje się w strefie B, czyli w obszarze błędów bez szkodliwych następstw klinicznych, tzw. błędy niegroźne.

DYSKUSJA

Celem wykonanych badań wartości glikemii było porównanie wyników tych oznaczeń na analizatorach ACCU-CHEK Inform II z metodą referencyjną, na analizatorze **cobas c 311**. Analizę tę odniesiono do zaleceń normy EN ISO 15197: 2003, ze zmianami z 2013 roku oraz wymogami PTB, jak również przedstawiono ocenę za pomocą siatki błędów Clarke’a [4,7,8].

Tabela 1. Zestawienie wyników stężeń glukozy (mg/dl) wykonanych na ACCU-CHEK Inform II i metodą referencyjną (cobas c 311).

L.p	Accu-Check Inform II stężenie glukozy (mg/dl)	cobas C311 stężenie glukozy (mg/dl)	Błąd glukometru (%)				
				63	85	75	13,33
				64	99	94	5,32
				65	109	99	10,10
				66	90	79	13,92
				67	87	83	4,82
				68	101	94	7,45
				69	81	82	1,22
				70	82	81	1,23
				71	85	71	19,72
				72	90	78	15,38
				73	98	92	6,52
				74	89	76	17,11
				75	77	70	10,00
				76	76	78	2,56
				77	88	79	11,39
				78	115	103	11,65
				79	109	103	5,83
				80	93	81	14,81
				81	92	96	4,17
				82	90	90	0,00
				83	86	84	2,38
				84	80	77	3,90
				85	83	84	1,19
				86	98	84	16,67
				87	84	89	5,62
				88	102	94	8,51
				89	96	90	6,67
				90	97	84	15,48
				91	100	93	7,53
				92	116	106	9,43
				93	91	88	3,41
				94	93	88	5,68
				95	89	90	1,11
				96	94	91	3,30
				97	79	84	5,95
				98	99	84	17,86
				99	102	100	2,00
				100	97	93	4,30
				101	95	87	9,20
				102	88	77	14,29
				103	79	71	11,27
				104	79	74	6,76
				105	94	83	13,25
				106	85	80	6,25
				107	81	81	0,00
				108	91	93	2,15
				109	77	74	4,05
				110	73	71	2,82
				111	87	105	17,14
				112	79	80	1,25
				113	75	73	2,74
				114	94	93	1,08
				115	98	97	1,03
				116	90	93	3,23
				117	83	76	9,21
				118	95	92	3,26
				119	88	85	3,53
				120	104	91	14,29
				121	93	88	5,68
				122	86	90	4,44
				123	74	70	5,71
				124	89	84	5,95
				Średnia	94	87	8,04
				Odchylenie standardowe	11,67	9,96	5,20
1	84	79	6,33				
2	91	82	10,98				
3	81	82	1,22				
4	105	89	17,98				
5	94	83	13,25				
6	83	79	5,06				
7	100	84	19,05				
8	97	83	16,87				
9	89	78	14,10				
10	94	83	13,25				
11	95	87	9,20				
12	107	96	11,46				
13	97	85	14,12				
14	86	74	16,22				
15	100	89	12,36				
16	88	82	7,32				
17	85	76	11,84				
18	96	83	15,66				
19	97	100	3,00				
20	97	90	7,78				
21	102	95	7,37				
22	78	85	8,24				
23	101	90	12,22				
24	117	102	14,71				
25	96	89	7,87				
26	101	92	9,78				
27	122	113	7,96				
28	92	98	6,12				
29	101	86	17,44				
30	110	97	13,75				
31	93	90	3,33				
32	99	89	11,24				
33	91	80	13,75				
34	89	82	8,54				
35	89	84	5,95				
36	86	81	6,17				
37	101	97	4,12				
38	80	76	5,26				
39	120	110	9,09				
40	96	89	7,87				
41	106	90	17,78				
42	93	83	12,05				
43	127	107	18,69				
44	88	81	8,64				
45	95	91	4,40				
46	84	76	10,53				
47	105	92	14,13				
48	146	130	12,31				
49	113	96	17,71				
50	89	76	17,11				
51	96	86	11,63				
52	96	88	9,09				
53	100	95	5,26				
54	128	114	12,28				
55	107	95	12,63				
56	90	80	12,50				
57	93	85	9,41				
58	99	92	7,61				
59	98	97	1,03				
60	100	97	3,09				
61	89	76	17,11				
62	83	75	10,67				

Podobnie, jak większość glukometrów dostępnych na naszym rynku ACCU-CHEK Inform II spełnia wymogi systemów do monitorowania glikemii u pacjentów, na oddziałach szpitalnych, ponieważ błąd tego analizatora mieści się w zakresie górnej granicy dopuszczalnego błędu dla glukometru - 10%. Tym samym jest zgodny z zaleceniami PTD z 2010⁹ oraz z wymogami normy EN ISO 15197: 2003, która za dopuszczalny błąd glukometru przyjmuje ~20%.⁷ Norma ta zakłada także, że dla stężeń glukozy <75 mg/dl (<4,2 mmol/l), 95% wyników ma mieścić się w zakresie ± 15 mg/dl (0,8 mmol/l) w porównaniu do wyniku uzyskanego metodą referencyjną, natomiast dla stężeń glukozy ≥ 75 mg/dl ($\geq 4,2$ mmol/l) zakres ten wynosi $\pm 20\%$ i system ACCU-CHEK Inform II w 100% spełnia zalecenia tej normy.² Wyniki uzyskane na tym analizatorze w zakresie stężeń glukozy ≥ 100 mg/dl nie są zgodne z wymogami normy EN ISO 15197 z 2013 roku, ponieważ jedynie 83,3% mieści się w zakresie $\pm 15\%$, a powinno minimum 95%.⁶ Siatka błędów Clarke'a ma na celu ocenę, czy większość (powyżej 95%) uzyskanych wyników jest zawartych w strefie A, co świadczy, że wyniki te są dokładne pod względem klinicznym, a ewentualny błąd jest akceptowalny dla postępowania z chorym. Natomiast w strefie B może znaleźć się poniżej 5% wyników, czyli w obszarze błędów bez szkodliwych następstw klinicznych, tzw. błędy niegroźne. Analiza ta potwierdziła dobrą jakość analizatorów ACCU-CHEK Inform II.^{4,7,8}

Tabela 2. Wyniki badania dokładności systemu ACCU-CHEK Inform II, zgodnie z normą EN ISO 15197: 2003

Glukoza < 75 mg/dl			Glukoza ≥ 75 mg/dl				Spełnione wymagania
± 5 mg/dl	± 10 mg/dl	± 15 mg/dl	<5%	<10%	<15%	<20%	Tak
5/9 (55,5%)	7/9 (77,8%)	9/9 (100%)	30/115 (26,1%)	68/115 (59,1%)	99/115 (86,1%)	115/115 (100%)	124/124 (100%)

Tabela 3. Wyniki badania dokładności systemu ACCU-CHEK Inform II, zgodnie z normą EN ISO 15197, ze zmianami z 2013 roku

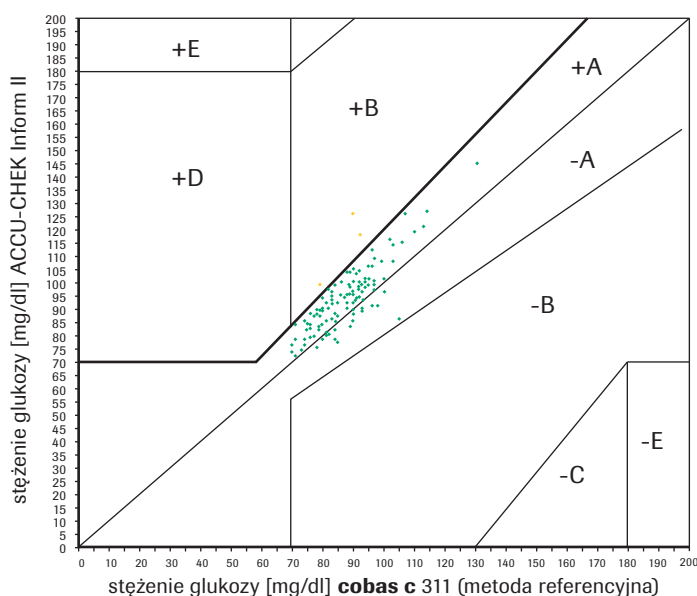
Glukoza < 100 mg/dl			Glukoza ≥ 100 mg/dl				Spełnione wymagania
± 5 mg/dl	± 10 mg/dl	± 15 mg/dl	$\pm 5\%$	$\pm 10\%$	$\pm 15\%$	$\pm 20\%$	Tak
34/112 (30,4%)	74/112 (66,1%)	106/112 (94,6%) ~ 95%	2/12 (16,7%)	6/12 (50,0%)	10/12 (83,3%)	12/12 (100%)	118/124 (95,2%)

● Testy paskowe

do oznaczania stężenia glukozy we krwi



Wykres I Zestawienie wyników glikemii wykonanej na analizatorach ACCU-CHEK Inform II z metodą referencyjną za pomocą siatki błędów Clarke'a



ACCU-CHEK Inform II
· kompaktowy aparat do monitorowania glikemii przy łóżku chorego



ACCU-CHEK Inform II
w stacji dokującej

WNIOSKI

1. Analizatory ACCU-CHEK Inform II to urządzenia proste w obsłudze, łączące cechy standardowych glukometrów i profesjonalnych analizatorów diagnostycznych. Zostały pozytywnie ocenione zarówno przez obsługujący personel pielęgniarski na oddziałach szpitalnych, jak i diagnostów Centralnego Laboratorium Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Oprogramowanie **Cobas IT 1000** stanowi nieocenioną pomoc w monitorowaniu pracy na glukometrach i ułatwia kontrolę diagnostom w prawidłowości ich obsługi przez personel pielęgniarski i umożliwia czuwanie nad jakością uzyskiwanych wyników.
2. Wyniki stężenia glukozy uzyskane z analizatorów ACCU-CHEK Inform II spełniają wymagania normy EN ISO 15197:2003, ponieważ 100% uzyskanych wyników mieści się w zakresie ± 15 mg/dl dla stężeń glukozy we krwi < 75 mg/dl i podobnie 100% wyników uzyskanych dla stężeń glukozy we krwi ≥ 75 mg/dl mieści się w zakresie $\pm 20\%$ w porównaniu z metodą referencyjną. Jedynie w zakresie normy EN ISO 15197 z 2013 roku wyniki uzyskane z ACCU-CHEK Inform II dla stężeń glukozy ≥ 100 mg/dl, nie są zgodne z normą, ponieważ tylko 83,3% uzyskanych wyników mieści się w zakresie $\pm 15\%$.
3. Analiza siatki błędów Clarke'a wykazała dobrą jakość analizatorów ACCU-CHEK Inform II, ponieważ 97,58% punktów mieściło się w strefie A siatki, a jedynie 2,42% w strefie B.
4. Średni błąd testowanych analizatorów ACCU-CHEK Inform II wynosi 8,04% i jest akceptowalny zgodnie z rekomendacjami Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego z 2010 roku i zaleceniami normy EN ISO 15197:2003.

*Piśmiennictwo dostępne
w redakcji*

Nowy algorytm badań przesiewowych w profilaktyce raka szyjki macicy

WYTYCZNE DLA PROGRAMÓW BADAŃ PRZESIEWOWYCH

W roku 1968 Światowa Organizacja Zdrowia przygotowała dokument opisujący wytyczne i praktykę badań przesiewowych dla różnych chorób. Za główne kryterium przydatności badań przesiewowych uważa się udowodnione korzyści z terapii u pacjentów z nierozpoznaną chorobą, uwzględniając wyniki fałszywie dodatnie u pacjentów bez choroby.

Przedstawione zostały wytyczne jakimi kierować się przy ocenie potencjalnych programów przesiewowych, do których należą między innymi: znaczenie dla zdrowia publicznego, poznana historia naturalna, rozpoznawalny etap utajony, czy dostępny test jest łatwy do wykonania i interpretacji, czy jest dokładny, niezawodny, czuły i swoisty, czy istnieje zaakceptowane leczenie skuteczniejsze na wczesnym etapie, czy znane są reguły kogo leczyć i jaka jest efektywność ekonomiczna.

Kiedy rozważamy te kryteria w świetle efektywności programu przesiewowego w profilaktyce raka szyjki opartych na badaniu cytologicznym należy zauważyć że większość z nich była spełniona. Badanie cytologiczne odniosło duży sukces w obniżeniu liczby przypadków raka szyjki macicy w wielu krajach. Niemniej nie spełnia ono wszystkich wytycznych i jeżeli chcemy podnieść efektywność programów profilaktycznych należy je zmodyfikować.

OGRANICZENIA PROGRAMÓW PROFILAKTYKI RAKA SZYJKI MACICY OPARTYCH NA BADANIU CYTOLOGICZNYM

Chociaż wiadomo że rak szyjki macicy rozwija się wiele lat, a nawet dekad, nadal nie znamy przyczyny jego występowania u poszczególnych pacjentów. Cytologia identyfikuje kobiety zakażone wirusem – prekursorem raka, a nie kobiety u których występuje ryzyko zachorowania na raka szyjki macicy¹. Niemniej możliwość wykrycia atypowych komórek w wymazie z szyjki macicy było ważnym odkryciem i częste badania cytologiczne przez wiele lat stały się podstawą skutecznych programów przesiewowych, pomimo braku możliwości stwierdzenia u której kobiety w przyszłości rozwinię się rak.

Badanie cytologiczne spełnia kryterium łatwości wykonania, ale niestety nie jest łatwe w interpretacji. W ramach badania prowadzonego przez Narodowy Instytut Raka w USA dwóch cytopatologów oceniało te same preparaty opisane wcześniej jako atypowe komórki nabłonka płaskiego o nieznanym znaczeniu diagnostycznym (ASC-US, *atypical squamous cells of undetermined significance*) lub śródnabłonkowe zmiany dysplastyczne małego stopnia (LSIL, *low-grade squamous intraepithelial lesion*)². Analiza około 5000 cytologii wykazała, że tylko 78% wyników zakwalifikowanych w pierwszym badaniu jako negatywne potwierdziło się podczas oceny przez drugiego cytopatologa. Bardziej znaczące było, że 47% wymazów zakwalifikowanych jako śródnabłonkowe zmiany dysplastyczne dużego stopnia ($\geq$ HSIL, *high-grade squamous intraepithelial lesion*) w pierwszym badaniu zostało zdiagnozowanych jako zmiany niższego stopnia podczas ponownej oceny. Dane te potwierdzają, że subiektywna ocena obrazu widzianego przez cytologa w mikroskopie jest trudna w interpretacji i wynika głównie z jego doświadczenia.

Cytologia jest badaniem o wysokiej swoistości, ale dla programów przesiewowych najważniejszym atrybutem jest czułość badania. Niska czułość oznacza że u części pacjentek zmiany nie zostaną zidentyfikowane. Natomiast test o wysokiej czułości ale niskiej swoistości może być z powodzeniem stosowany w badaniach przesiewowych jeśli łączy się go z badaniem potwierdzającym dla wyników pozytywnych. Niestety niska czułość badania cytologicznego powoduje wyniki fałszywie ujemne i taki test może być stosowany z powodzeniem jeśli rozwój choroby następuje powoli i pozwala na wielokrotne badania przesiewowe w długim okresie.

Czułość pojedynczego badania cytologicznego w wymazie z szyjki macicy w wykrywaniu zmian o charakterze wewnątrz nabłonkowej neoplazji (CIN, *cervical intraepithelial neoplasia*) CIN2 lub wyższych (>CIN2) wynosi od 44% do 74%. Należy zaznaczyć, że cytologia płynna charakteryzuje się wyższą czułością niż tradycyjny wymaz metodą Papanicolaou (PAP), która wynosi 71%-74%^{3,4} w porównaniu do 44%-65%^{5,6,7}. Chociaż większość pacjentek z rakiem szyjki macicy nie wykonywała wcześniej regularnych badań przesiewowych to wciąż w 1/4 przypadków stwierdzano wcześniej fałszywie negatywne wyniki badania cytologicznego^{8,9}.

Badania przeprowadzone w krajach rozwiniętych wykazały, że u kobiet powyżej 30 roku życia test na obecność DNA wirusa brodawczaka ludzkiego (HPV) wykrywa średnio o 36% więcej przypadków zaawansowanych zmian szyjki macicy ($\geq$ CIN2) w porównaniu do cytologii¹⁰. Dla długookresowego porównania skuteczności testu HPV w wykrywaniu zaawansowanych zmian szyjki macicy w porównaniu z cytologią, szczególne znaczenie ma uwzględnienie poszczególnych genotypów HPV, w tym najbardziej onkogennych 16 i 18. Przełomowe badanie Khana zawierające wyniki ponad 12 000 kobiet powyżej 30 roku życia demonstruje ryzyko rozwoju $\geq$ CIN3 w okresie 10 lat. Po niespełna 120 miesiącach u kobiet z ujemnym wynikiem cytologii rozwinęły się zmiany $\geq$ CIN3 za które głównie odpowiadają genotypy 16 i 18.

Pomimo powyższych ograniczeń, które powodują że cytologia nie spełnia wszystkich wytycznych, program przesiewowy w profilaktyce raka szyjki macicy jest skuteczny z kilku powodów. W większości przypadków możliwe były kilkukrotne rundy badań co zwiększyło czułość metody. Do niedawna większość ginekologów stosowała radykalne leczenie łagodnych zmian, które mogły w przyszłości rozwinąć chorobę. Takie leczenie zmian przedrakowych uważanych za stosunkowo łagodne dla kobiet, które zakończyły okres rozrodczy było do przyjęcia, w szczególności gdy pozwalało uniknąć potencjalnego ryzyka w przyszłości. Teraz, gdy testy HPV stają się powszechnie stosowane, istnieje możliwość zmiany podejścia. Mamy wysoką czułość oraz bardzo wysoki stopień zaufania do wyniku negatywnego, który umożliwia rzadsze badania. Możemy również dokonać stratyfikacji do kategorii ryzyka raka szyjki macicy i odpowiednio zarządzać każdą z grup, zmniejszając liczbę nieuzasadnionych kolposkopii przy jednoczesnym zwiększeniu ochrony przed rakiem.

PROGRAM PROFILAKTYKI RAKA SZYJKI MACICY OPARTY NA BADANIU HPV DNA

Zakażenie genotypami wysokiego ryzyka wirusa brodawczaka ludzkiego (HPV) występuje w prawie wszystkich przypadkach raka szyjki macicy, ale nie prowadzi do raka w zdecydowanej większości tych przypadków. Wysoka częstość zakażeń HPV w naszej populacji, szczególnie wśród młodych kobiet powoduje, że program profilaktyki raka szyjki macicy oparty wyłącznie o badanie HPV u wszystkich kobiet nie jest zbyt swoisty. To spowodowało, że dotychczasowe wytyczne zalecały stosowanie testu HPV u kobiet poniżej 30 roku życia jako badanie potwierdzające dla wyników cytologii ASC-US.

Jednakże wysoka częstość występowania zmian typu CIN3 u kobiet w wieku 25-29 sugeruje, że cytologia również ma znaczące ograniczenia w tej grupie wiekowej. Dane prowadzone w wybranych stanach USA rejestru SEER (*The Surveillance, Epidemiology, and End Results*) potwierdzają, że w okresie od 25 do 34 roku życia występuje szybki liniowy wzrost liczby wykrytych przypadków zmian wysokiego stopnia dysplazji szyjki macicy - od 3 do 13 przypadków na 100 000 mieszkańców. Wyniki te pozostają zgodne z rezultatami badania ATHENA, w którym zmiany CIN3 lub wyższe wykryto aż u 28% kobiet (6 647) w wieku 25-29 lat, podczas gdy w grupie wiekowej powyżej 40 roku życia było ich 25% (22 006). Dodatkowo skuteczność samej cytologii w wykrywaniu zmian wysokiego stopnia, u kobiet w wieku 25-29



cobas 4800

· Automatyczny system
do PCR w czasie
rzeczywistym

jest bardzo niska, aż 57,3% kobiet miało negatywny wynik w badaniu cytologicznym. Kolejnym czynnikiem wymagającym wzięcia pod uwagę jest częstość wykrywania genotypów wirusa wysokiego ryzyka (hrHPV DNA). W badaniu ATHENA aż 21,5% kobiet w wieku 25-29 miało wynik pozytywny testu hrHPV DNA, ale prawdopodobnie większość z nich wyeliminuje wirusa, więc w tych przypadkach należy rozważyć wykonanie cytologii wykorzystując jej swoistość, aby uniknąć niepotrzebnych kolposkopii. Z powodu dużej liczby przypadków zmian wysokiego stopnia i bardzo niskiej czułości cytologii u kobiet w wieku 25-29 zastosowanie testu hrHPV DNA jako badanie przesiewowe w tej grupie wiekowej wydaje się uzasadnione.

BADANIE ATHENA

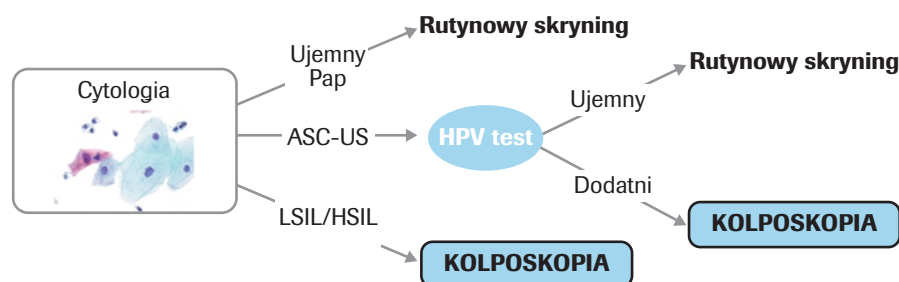
Największe prospektywne badanie przesiewowe raka szyjki macicy przeprowadzone do tej pory objęło ponad 47 000 kobiet w wieku od 21 roku życia. Badanie ATHENA posłużyło jako badanie rejestracyjne do zatwierdzenia testu cobas HPV przez FDA w 2011 r do zastosowania jako badanie przesiewowe równoległe z cytologią. Obecnie rejestracja FDA obejmuje również zastosowanie testu cobas HPV z genotypowaniem 16/18 do badań przesiewowych w profilaktyce raka szyjki macicy zamiast cytologii.

Wszystkie kobiety uczestniczące w badaniu miały wykonane badanie cytologii płynnej (LBC) i test HPV z genotypowaniem 16/18 na początku. Każda kobieta z wynikiem pozytywnym jednego z badań (ok. 8000) miała wykonaną kolposkopię i badanie histologiczne w przypadku biopsji. Badania kontrolne powtarzano corocznie przez okres 3 lat. Zebrane wyniki posłużyły do porównania kilku strategii badań przesiewowych bazujących na różnych kombinacjach testów dla kobiet w 25 roku życia i starszych (mediana: 41 lat).

STRATEGIA TESTU ROZSTRZYGAJĄCEGO DLA GRUPY O NIEJEDNOZNACZNEJ CYTOLOGII (ASC-US)

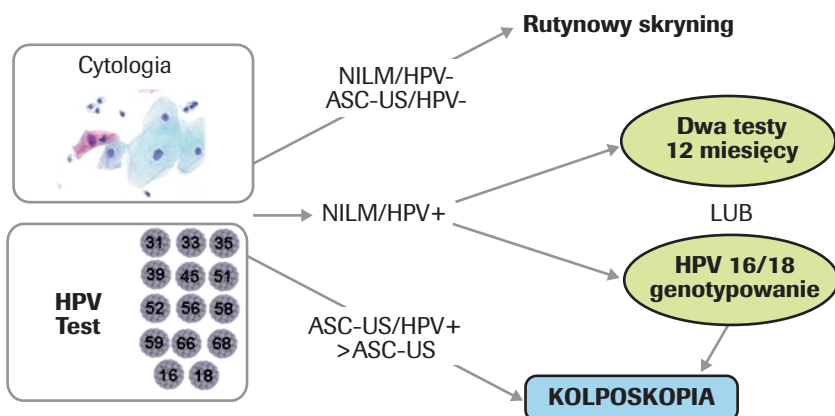
Ten schemat badań przesiewowych jest obecnie stosowany w wielu krajach na świecie. Jeśli wynik badania cytologicznego jest ujemny pacjentka zgłasza się na kolejne badanie, zwykle po 3 latach (Rys. 1). Jeśli wynik badania jest nieokreślony zleca się badanie różnicujące którym jest test HPV DNA i w przypadku wyniku ujemnego pacjentka wraca do schematu rutynowego skryningu, a wynik dodatni kwalifikuje ją na badanie kolposkopowe. Wykrycie jakichkolwiek zmian w cytologii wymaga wykonania kolposkopii. Strategia ta z badaniem rutynowym co 3 lata jest rekomendowana dla kobiet w wieku powyżej 21 roku życia w wytycznych USA. Polski program profilaktyki raka szyjki macicy nie uwzględnia badania HPV.

1 Strategia testu rozstrzygającego dla ASC-US



STRATEGIA DWÓCH TESTÓW RÓWNOLEGLE

Wymaz z szyjki macicy poddawany jest ocenie cytologicznej i równoległe wykonuje się badanie HPV DNA (Rys. 2). Jeśli oba testy są negatywne pacjentka zgłasza się na kolejne badanie kontrolne w ramach rutynowego skryningu. Jeżeli w cytologii zaobserwowano zmiany typu LSIL

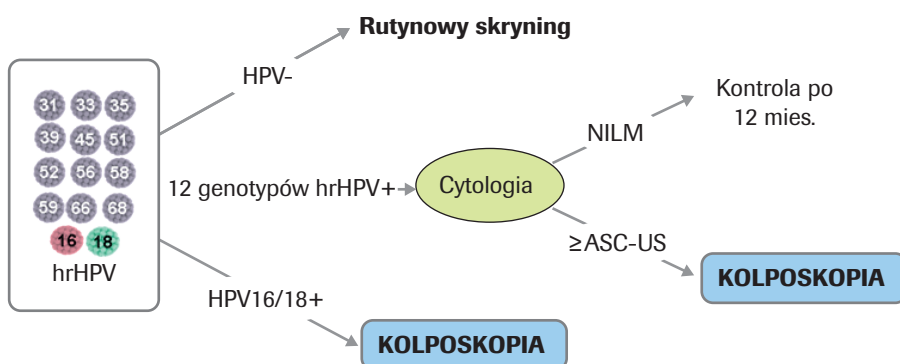


2 Strategia dwóch testów równoległe

lub HSIL wykonuje się badanie kolposkopowe, niezależnie od wyniku HPV DNA. W przypadku niejednoznacznej cytologii (ASC-US) wynik testu HPV decyduje o zleceniu kolposkopii. Prawidłowy wynik cytologii i pozytywny test HPV decyduje o wyborze jednej z dwóch możliwych opcji: powtórzenie obu testów za 12 miesięcy lub wykonanie genotypowania 16/18, a następnie kolposkopii jeśli wynik jest dodatni.

STRATEGIA HPV Z GENOTYPOWANIEM I ROZSTRZYGANIE PRZEZ CYTOLOGIĘ

Pierwszym badaniem jest test HPV z genotypowaniem i jeśli u kobiety wykryje się genotyp 16 lub 18 wirusa HPV natychmiast wykonywana jest kolposkopia (Rys. 3). Dodatni wynik na obecność pozostałych 12 wysokoonkogenych typów HPV (lub nie-16/18) wymaga wykonania cytologii i w przypadku wyniku nieokreślonego lub zmian, zleca się badanie kolposkopowe. W przypadku ujemnego wyniku testu HPV DNA kolejne badanie wykonuje się zgodnie z harmonogramem rutynowego skryningu.



3 Strategia HPV z genotypowaniem i rozstrzyganie przez cytologię

PORÓWNIANIE STRATEGII

Czułość i swoistość nowych strategii w wykrywaniu zmian $\geq$ CIN3 dla kobiet w wieku powyżej 25 lat odnoszono do strategii podstawowej opartej na badaniu cytologicznym z rozstrzygnięciem testem HPV dla ASC-US. Dla strategii dwóch testów równoległe z genotypowaniem 16/18 czułość względna jest o 18% wyższa, natomiast czułość względna strategii HPV z genotypowaniem i rozstrzygnięciem przez cytologię jest o 40% większa od strategii podstawowej. Swoistość względna nowych strategii jest nieznacznie mniejsza niż strategia podstawowa: 0,99% w porównaniu do 1,00%.

Pozytywna wartość predykcyjna (PPV) w wykrywaniu zmian CIN3 lub większych dla wszystkich trzech strategii jest zbliżona, a różnice nie są statystycznie istotne. Natomiast negatywna wartość predykcyjna jest nieznacznie, ale istotnie większa dla strategii dwóch testów równoległe z genotypowaniem 16/18 oraz strategii HPV z genotypowaniem i rozstrzyganie przez cytologię, co oznacza że kobiety które otrzymają ujemny wynik z wykorzystaniem tych algorytmów mają większą pewność, że nie posiadają zaawansowanych zmian niż kobiety ujemne wyłącznie w badaniu cytologicznym.

Określono również skumulowane 3 letnie ryzyko związane z zakażeniem HPV 16 i 18 na początku badania i po 3 latach. W ogólnej populacji kobiety zakażone genotypem 16 miały po 3 latach o 25% wyższe ryzyko wystąpienia $\geq$ CIN3. Genotyp 18 zwiększa ryzyko o 12,5%, natomiast zakażenie pozostałymi 12 genotypami wysokiego ryzyka wiąże się z 5% ryzykiem rozwoju $\geq$ CIN3 po 3 latach.

Dotychczasowe rozważania koncentrowały się na postępowaniu z wynikami dodatnimi, podczas gdy w badaniach przesiewowych 90% wyników jest ujemnych. W tej grupie kobiety, które posiadały ujemny wynik testu HPV w chwili włączenia do badania otrzymano bardzo niskie ryzyko $\geq$ CIN3.

Wynosiło ono 0,34% w porównaniu do 0,78% dla ujemnej cytologii, co oznacza dla kobiet, że ryzyko bycia zdiagnozowaną ze zmianami wysokiego stopnia (CIN3) lub wyższymi po 3 latach jest o połowę niższe przy ujemnym badaniu hrHPV DNA niż cytologii.

PODSUMOWANIE

Profilaktyka oparta na cytologii jest skuteczna w zmniejszaniu zapadalności na raka szyjki macicy. Jednakże po uwzględnieniu ograniczeń wiemy, że istnieje szansa na zwiększenie jej skuteczności poprzez wykorzystanie nowych technologii. Użycie bardziej czułego testu jako pierwszego badania jest zgodne z dobrą praktyką dla programów przesiewowych. Test HPV DNA jest znacznie czulszy w wykrywaniu zmian przedrakowych szyjki macicy i tym samym umożliwia skuteczniejszą identyfikację kobiet, które narażone są na wysokie ryzyko zachorowania. Genotypowanie HPV 16/18 może zostać wykorzystane do określenia najwyższego ryzyka. Oznaczanie pozostałych 12 genotypów HPV w połączeniu z cytologią pozwalają osiągnąć prawie identyczną swoistość jak rutynowy skryning oparty na samej cytologii przy identycznej pozytywnej wartości predykcyjnej, co umożliwia efektywną identyfikację kobiet, które wymagają dodatkowych badań. Dodatni wynik testu cobas HPV identyfikuje kobiety, które narażone są na największe ryzyko raka szyjki macicy i umożliwia klinicystom odpowiednią interwencję. Negatywny wynik testu cobas HPV dostarcza w przybliżeniu podwojoną pewność, że pacjentka nie rozwinię zmian $\geq$ CIN3 w ciągu kolejnych 3 lat. Obecnie w Polsce trwają programy pilotażowe mające na celu przygotowanie do wdrożenia programu profilaktyki zawierającego test HPV DNA.

*Opracowano na podstawie
materiałów własnych Roche*

*Piśmiennictwo dostępne
w redakcji*



Nasz adres:
Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.
ul. Wybrzeże Gdyńskie 6B
01-531 Warszawa

centrala: tel. 22 481 55 55, 56
faks 22 481 55 99
call center: tel. 22 481 54 54
e-mail: dia.callcenterpl@roche.com

obsługa klienta: tel. 22 481 54 00-05
faks 22 481 55 96
e-mail: polska.diagnostics@roche.com
internet: www.roche.pl